

ÚZPI

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ



ŽIVOČIŠNÁ VÝROBA

Animal Production

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

8

VOLUME 42 (LXX)
PRAHA
SRPEN 1997
CS ISSN 0044-4847

Mezinárodní vědecký časopis vydávaný z pověření Ministerstva zemědělství České republiky a pod gescí České akademie zemědělských věd

An international journal published under the authorization by the Ministry of Agriculture and under the direction of the Czech Academy of Agricultural Sciences

REDAKČNÍ RADA – EDITORIAL BOARD

Předseda – Chairman

Ing. Vít Prokop, DrSc. (Výzkumný ústav včívky zvířat, Pohořelice, ČR)

Členové – Members

Prof. Ing. Jozef Bulla, DrSc. (Výzkumný ústav živočišnej výroby, Nitra, SR)

Doc. Ing. Josef Čeřovský, DrSc. (Výzkumný ústav živočišné výroby Praha, pracoviště Kostelec nad Orlicí, ČR)

Prof. Dr. hab. Andrzej Filistowicz (Akademia rolnicza, Wrocław, Polska)

Ing. Ján S. Gavora, DrSc. (Centre for Food and Animal Research, Ottawa, Ontario, Canada)

Dr. Alfons Gottschalk (Bayerische Landesanstalt für Tierzucht, Grub, BRD)

Ing. Július Chudý, CSc. (Slovenská poľnohospodárska univerzita, Nitra, SR)

Dr. Ing. Michael Ivan, DSc. (Universiti Pertanian Malaysia, Serdang, Malaysia)

Prof. Ing. MVDr. Pavel Jelínek, DrSc. (Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno, ČR)

Prof. Dr. Ing. Ivo Kolář, CSc. (Výzkumný ústav pro chov skotu, s. r. o., Rapotín, ČR)

Ing. Jan Kouřil (Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický Jihočeské univerzity, Vodňany, ČR)

Prof. Ing. František Louda, DrSc. (Česká zemědělská univerzita, Praha, ČR)

Prof. Ing. Josef Mácha, DrSc. (Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno, ČR)

RNDr. Milan Margetín, CSc. (VÚŽV Nitra, Stanica chovu a šľachtenia oviec a kôz, Trenčín, SR)

Dr. Paul Millar (BRITBREED, Edinburgh, Scotland, Great Britain)

Ing. Ján Poltársky, DrSc. (Výzkumný ústav živočišnej výroby, Nitra, SR)

Ing. Antonín Stratil, DrSc. (Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, Liběchov, ČR)

Ing. Pavel Trefil, CSc. (Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha-Uhřetěves, ČR)

Vedoucí redaktorka – Editor-in-Chief

Ing. Marie Černá, CSc.

Cíl a odborná náplň: Časopis publikuje původní vědecké práce a studie typu review z oblasti genetiky, šlechtění, fyziologie, reprodukce, výživy a krmení, technologie, etologie a ekonomiky chovu skotu, prasat, ovcí, koz, drůbeže, ryb a dalších druhů hospodářských zvířat.

Časopis je citován v bibliografickém časopise Current Contents – Agriculture, Biology and Environmental Sciences a v časopise Animal Breeding Abstracts. Abstrakty z časopisu jsou zahrnuty v těchto databázích: Agris, CAB Abstracts, Current Contents on Diskette – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, Czech Agricultural Bibliography, Toxline Plus, WLAS.

Periodicita: Časopis vychází měsíčně (12x ročně), ročník 42 vychází v roce 1997.

Přijímání rukopisů: Rukopisy ve dvou vyhotoveních je třeba zaslat na adresu redakce: Ing. Marie Černá, CSc., vedoucí redaktorka, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/24 25 34 89, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: fofo@uzpi.cz. Den doručení rukopisu do redakce je publikován jako datum přijetí k publikaci.

Informace o předplatném: Objednávky na předplatné jsou přijímány pouze na celý rok (leden–prosinec) a měly by být zaslané na adresu: Ústav zemědělských a potravinářských informací, vydavatelské oddělení, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Cena předplatného pro rok 1997 je 672 Kč.

Aims and scope: The journal publishes scientific papers and reviews dealing with the study of genetics and breeding, physiology, reproduction, nutrition and feeds, technology, ethology and economics of cattle, pig, sheep, goat, poultry, fish and other farm animal management.

The journal is cited in the bibliographical journal Current Contents – Agriculture, Biology and Environmental Sciences and abstracted in Animal Breeding Abstracts. Abstracts from the journal are comprised in the databases: Agris, CAB Abstracts, Current Contents on Diskette – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, Czech Agricultural Bibliography, Toxline Plus, WLAS.

Periodicity: The journal is published monthly (12 issues per year), Volume 42 appearing in 1997.

Acceptance of manuscripts: Two copies of manuscript should be addressed to: Ing. Marie Černá, CSc., editor-in-chief, Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/24 25 34 89, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: fofo@uzpi.cz. The day the manuscript reaches the editor for the first time is given upon publication as the date of reception.

Subscription information: Subscription orders can be entered only by calendar year (January–December) and should be sent to: Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Subscription price for 1997 is 170 USD (Europe), 177 USD (overseas).

WAYS OF COMBINATION OF PARTIAL BREEDING VALUES TO THE SIRES COMPLEX INDEX

ZPŮSOBY KOMBINACE DÍLČÍCH PLEMENNÝCH HODNOT DO SOUHRNNÉHO INDEXU PLEMENÍKŮ

J. Příbyl¹, J. Aumann², J. Příbylová¹, G. Averdunk²

¹Research Institute of Animal Production, Praha-Uhřetěves, Czech Republic

²Research Institute of Animal Production, Grub, Germany

ABSTRAKT: Kombinace nezávisle stanovených plemenných hodnot býků pro tři vlastnosti je simulována na základě tří postupů. Exaktní procedura selekčních indexů je porovnávána jednak s metodou, při které jsou neúplně znalosti o populačně-genetických parametrech a variancích dílčích plemenných hodnot, a dále s metodou kombinace pouze na základě ekonomických hodnot. Metody se významně liší při malém počtu hodnocených potomků na býka. Při vysokém počtu potomků (vysoké spolehlivosti dílčích plemenných hodnot) váhové koeficienty v indexu konvergují k ekonomickým hodnotám daných vlastností. Přibližné metody nadhodnocují jak spolehlivost odhadu souhrnné hodnoty, tak především vlastní hodnotu indexu. To je významné zvláště v případech, kdy jsou porovnávání býci s odlišnými spolehlivostmi odhadů, např. při porovnání mladých a komplexně prověřených býků. Kombinaci dílčích hodnot je proto třeba provádět na základě reálných kovariancí mezi plemennými hodnotami a kovariancí dílčích plemenných hodnot k vlastnostem v souhrnném genotypu.

býci; plemenná hodnota; selekční index; spolehlivost; simulace; způsoby kombinace

INTRODUCTION

Combination of several information sources to total selection criteria is usually done by selection index procedure, Van Vleck (1981) is showing a lot of possibilities of selection index construction covering also different relationship structures. Cunningham (1970) worked out a computer program for selection index construction and Cunningham (1975) presented an elegant matrix form for a multi-stage selection index. Künzi (1975) extended this procedure by implanting relationship structures between animals. Mielenz and Schüller (1996) calculate the stability region for covariance matrices and mean square error of an index in a process of construction of selection indexes. The selection index procedures are now substituted by the multi-trait animal model (AM). Schneeberger et al. (1992) extended multi-trait BLUP evaluation to the case, when traits in a complex genotype are other than characters under control.

Dairy and dual purpose cattle populations are now evaluated by BLUP or AM procedures. Single trait evaluations are step by step substituted by the multi-trait procedures. But the real size of big populations is not allowing in every case to use complex multi-trait procedures. The evaluation (data processing) often is done independently for separate characters, with the effort on more precise models of evaluation and possible decomposition to the source parts (for example Test Day Model, Swalwe, 1993). The combination of partial breeding values to the global value is then pos-

sible by selection index theory (Příbyl, Příbylová, 1991).

Matrix equations for finding weighting factors for each character (each partial breeding value) in an index are based on population-genetic principles and economic parameters. Covariance matrices of sources of information in the index and covariances of sources of information to the aggregate genotype (in the case of combining of breeding values) depend also on reliability of partial breeding values and the relationship between animals which are used for breeding value estimation. These parameters are usually not exactly known because all relationships covering several generations are used for breeding value estimation by AM. For this reason the combination of partial breeding values to the whole index is usually approximative.

The purpose of this study is to look on the accuracy of several procedures of combining the partial breeding values into the complex index.

METHODOLOGICAL BACKGROUND

Index construction

From well known theory (for example Cunningham, 1975), the index is defined as

$$I = \sum b_i \cdot p_i \quad (1)$$

and the aggregate genotype is

$$H = \sum v_j \cdot c_j \quad (2)$$

Weights b_i are found from a matrix equation

$$b = P^{-1} \cdot G \cdot v \quad (3)$$

where: b – vector of weights

P – covariance matrix of information sources (p) (characters) in an index

G – covariance matrix of information sources (p) (characters) in an index to traits in complex genotype (c); it is a genetic covariance matrix with some modifications

v – vector of economic weights

Reliability of the index is

$$r_I^2 = \frac{Cov_{IH}^2}{\sigma_I^2 \cdot \sigma_H^2} = \frac{\sigma_I^2}{\sigma_H^2} = \frac{b' \cdot G \cdot v}{v' \cdot C \cdot v} \quad (4)$$

where: C – covariance matrix of traits (c) in complex genotype (genetic covariance matrix)

Independent breeding value for one character

In a very simple form (Příbyl, 1986) the breeding value for one independent character is possible to express as

$$BV = \delta \cdot D \quad (5)$$

where: BV – breeding value

D – deviation of production of proband from contemporary group

δ – regression coefficient of genotypic value for a given character on production deviation

By using the selection index theory (equations 1 to 4) only for one character we have

$$\delta_i = b_i = \frac{\sigma^2_{g_{ii}}}{\sigma^2_{p_{ii}}} \quad (6)$$

where: $\sigma^2_{g_{ii}}$ – element of matrix G

$\sigma^2_{p_{ii}}$ – element of matrix P

Reliability of breeding value estimation for this character is then

$$r_i^2 = \delta_i \cdot \frac{\sigma^2_{g_{ii}}}{\sigma^2_{c_{ii}}} = \delta_i \cdot a_i \quad (7)$$

where $\sigma^2_{c_{ii}}$ is an additive genetic variance for given traits and the fraction

$$\frac{\sigma^2_{g_{ii}}}{\sigma^2_{c_{ii}}} = a_i$$

is expressing the additive relationship between the source of information and genotype for the same character ($a = 1$ for performance test, 0.5 for progeny, 0.25 for halfsibs...). Because the breeding value of proband is a combination of several information sources (with AM procedure), the global coefficient a_i is frequently not exactly known. The above procedure can be extended to more sources of information connected to one trait.

Variance of breeding value

Variances of breeding values – following (4) and (5) – are

$$\sigma_{BV_1}^2 = \delta_1^2 \cdot \sigma^2_{d_1} = \delta_1 \cdot \sigma^2_{g_{11}} = r_1^2 \cdot \sigma^2_{c_{11}} \quad (8)$$

Covariance between breeding values

In a case that breeding values for two characters are evaluated independently, then the covariance between the breeding values is

$$Cov_{BV_1BV_2} = \delta_1 \cdot (Cov_{D_1D_2}) \cdot \delta_2 = \frac{r_1^2}{a_1} \cdot (Cov_{D_1D_2}) \cdot \frac{r_2^2}{a_2} \quad (9)$$

Covariance $Cov_{D_1D_2}$ has different proportions of the genetic and the environmental parts.

A) In a case that characters are performance tested on proband only

$$Cov_{D_1D_2} = Cov_{PIP_2} \text{ and}$$

$$Cov_{BV_1BV_2} = \delta_1 \cdot Cov_{PIP_2} \cdot \delta_2 \quad (9A)$$

B) In a case of progeny testing and measurement of all characters on the same animal

$$Cov_{D_1D_2} = \frac{1}{n} \cdot Cov_{PIP_2} + \frac{1}{4} \cdot \frac{n-1}{n} \cdot Cov_{CIC_2} = \frac{1}{n} \cdot Cov_{RIR_2} + \frac{1}{4} \cdot Cov_{CIC_2}$$

where: Cov_{RIR_2} – covariance of residuals (sum of environmental and 3/4 of genetic covariances)

n – number of progenies

Covariances between the breeding values after substitutions are then

$$Cov_{BV_1BV_2} = r_1^2 \cdot r_2^2 \cdot Cov_{CIC_2} + \delta_1 \cdot \delta_2 \cdot \frac{1}{n} \cdot Cov_{RIR_2} \quad (9B)$$

Proportion of these two parts depends on the number of progenies. Suppose that heritability of both characters is $h^2 = 0.24$; then the proportion is

$\frac{n}{100}$	then $\frac{\beta}{\alpha}$
1	62.66
100	0.6266

From these figures it can be seen that in most cases (except the high number of progeny and reliability) the second part is much bigger than the first one.

C) In a case of progeny testing and measurement of each character on the other animal

$$Cov_{D_1D_2} = \frac{1}{4} \cdot Cov_{CIC_2}$$

and covariance between the breeding values is

$$Cov_{BV_1BV_2} = r_1^2 \cdot r_2^2 \cdot Cov_{CIC_2} \quad (9C)$$

which is the first part from (9B). The covariances are generally a combination of all possibilities in the case of AM evaluation.

Covariance of breeding value of one character to one trait in the genotype

Covariance of breeding value for character (i) to the trait (j) in genotype is the genetic one with correction on additive relationship according to (7) and in agreement with (4). After substitutions there is

$$\text{Cov}_{\text{Gij}} = r_i^2 \cdot \text{Cov}_{\text{Cij}} \quad (10)$$

METHODS OF COMBINATION OF BREEDING VALUES

I. Accurate combination

For an accurate combination we suppose to know the variances and covariances of breeding values, the genetic variances and covariances and the reliability of partial breeding values in index for combining of breeding values is constructed according to (1) to (4), where in this case

p_i expresses the partial independent breeding value for character i

c_j expresses the genotype for trait j

b is a vector of the weights for partial breeding values in the total index

P is a covariance matrix of partial breeding values which are adequate to (8) and (9)

G is a covariance matrix of partial breeding values to the genotype according to (10)

The reliability of index is adequate to (4).

II. Combination according to the reliability of partial breeding values

In this case we suppose to know only reliability of partial breeding values and genetic variances and covariances, but not real variances and covariances of breeding values.

Elements of the matrix P are constructed according to (8) and (9C) and elements of the matrix G according to (10). This means that we are ignoring the incidental environmental and not controlled genetic influences on the covariances between the breeding values. The vector (b) is calculated according to (3) with the above mentioned changes.

The „true“ reliability of the index is

$$r_T^2 = \frac{(b' \cdot G \cdot a) \cdot (b' \cdot G \cdot a)}{(b' \cdot P \cdot b) \cdot (b' \cdot C \cdot a)} \quad (11)$$

where P in the case of reliability calculation is the covariance matrix of partial breeding values from the accurate combination (I).

III. Simple combination according to economic weights

In this case we suppose that for covariance matrices of breeding values is approximately

$$P \approx G \text{ or } P^{-1} G \approx I$$

This can be true for example when reliabilities for all partial breeding values are very high ($r_i^2 \approx 1$).

The other case for using this procedure is elementary – we know nothing about the genetic parameters, the reliability and the variances and covariances of breeding values.

The „true“ reliability of this index is like in (11).

DATA FOR THE SIMULATION

The validity of methods I to III are tested by the simulation of an index with three traits. Partial breeding values for sires are independently evaluated according to (n) progenies. All three characters are recorded on the same animals. Basic parameters for calculations are in Tabs. I and II.

I. Basic parameters for the breeding value estimation and index construction

Character	Economy value	Average production of n progenies	Heritability	Genetic standard deviation ¹
1	1	10	0.166	1.00
2	0.5	5	0.333	1.41
3	0.5	3	0.5	1.41

II. Correlations between the characters, genetic ones above, environmental ones below the diagonal

Character	1	2	3
1	1	0.35	0.35
2	0.22	1	0.25
3	0.63	0.35	1

From the data in Tabs. I and II the construction of matrices P , G and C follows.

$$P = f \cdot C + \frac{1}{n} \cdot R$$

where: R – residual covariance matrix,

$$f = \frac{4 + (n - 1)}{4 \cdot n}$$

Reliability of partial breeding value is

$$r^2 = h^2 \cdot \frac{n}{4 + (n - 1) \cdot h^2} \quad (12)$$

Comparison of the methods is on examples according to combination of genetic and economic parameters from Tabs. I and II. The first example is just according to the given tables. In other examples signs of some parameters are changed (positive or negative) but with the same absolute values of parameters. Summary of the examples are given in Tab. III. In each example

III. Signs for changing genetic and economy parameters in the different examples

Example	Sings for			
	$r_{G1,2}$	$r_{G1,3}$	a_2	a_3
1	+	+	+	+
2	+	+	-	+
3	-	+	+	+
4	-	+	-	+
5	-	-	+	+
6	-	-	-	+
7	+	+	-	-
8	-	+	-	-
9	-	-	-	-

a combination of the partial breeding values by all three methods is used and the number of progeny is varied from 1 to 100.

Weights (b), reliability of total index (r^2), and the combined breeding value (index value) are calculated for each case.

RESULTS

Partial breeding values

Independent breeding values and reliability depends upon the number of progeny. Summary for the three studied characters is in Tab. IV. Simulated values are in the case when average production of n progenies is constant and does not change with the size of group. The results are showing that with an increasing number of progeny the reliability and the breeding value are changing in the same way.

Combination of partial breeding values

EXAMPLE 1

The combinations of partial breeding values are provided by three methods. Example 1 corresponds directly with the input data in Tab. I and II. In Tab. V there are weights for each of three breeding values in a total index calculated by three methods. Breeding value of each character depends on the number of progenies (Tab. IV). The number of progenies also influences weights in the index.

In comparison with the accurate combination (method I) other approximative methods (methods II and III) differ highly in the case of low numbers of progenies. In the case of the high number of progenies weights converge to the economic value (method III). This depends strongly on the reliability of partial breeding values. In the case of high numbers of progeny the reliability of partial breeding values is also high. By the

same way the covariance matrices P and G are converging to the genetic ones.

Reliability of the index is not much influenced by the methods of combination. Approximate methods have only slightly lower reliabilities than the accurate procedure (Tab. VI). Values of the reliability strongly depend on the number of observations and correspond with the reliability of partial breeding values (Tab. IV).

Reliability of indexes and different weights for partial breeding values results in the total breeding values (values of indexes). In Tab. VII there are the values of indexes according to the methods of combination of partial breeding values and the number of progenies.

There are important differences between the values of indices according to the methods of combining partial breeding values. Methods II and III (approximate methods) are overestimating the level of index values in the case of low numbers of progenies (low reliability of the partial breeding values). This is important in cases when breeding values of bulls with different re-

IV. Breeding values (BV) and reliability for independent characters

Number of progenies	Character					
	1		2		3	
	r^2	BV	r^2	BV	r^2	BV
1	0.04	0.83	0.08	0.83	0.13	0.75
10	0.30	6.06	0.48	4.76	0.59	3.53
20	0.46	9.30	0.65	6.45	0.74	4.44
30	0.57	11.32	0.73	7.32	0.81	4.86
40	0.63	12.70	0.78	7.84	0.85	5.11
50	0.68	13.70	0.82	8.20	0.88	5.26
60	0.72	14.46	0.84	8.45	0.89	5.37
70	0.75	15.05	0.86	8.65	0.91	5.45
80	0.78	15.53	0.88	8.79	0.92	5.52
90	0.80	15.93	0.89	8.91	0.93	5.57
100	0.81	16.26	0.90	9.01	0.93	5.61

V. Weights of partial breeding values in an index according to the methods of combination and the number of progenies for example 1

Methods	I			II			III		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Character									
$n = 1$	0.40	0.58	0.65	1.41	0.83	0.84	1	0.5	0.5
10	0.72	0.58	0.57	1.13	0.68	0.84	1	0.5	0.5
20	0.82	0.57	0.55	1.05	0.63	0.71	1	0.5	0.5
30	0.87	0.56	0.53	1.03	0.60	0.65	1	0.5	0.5
40	0.89	0.55	0.53	1.01	0.59	0.62	1	0.5	0.5
50	0.91	0.54	0.52	1.01	0.57	0.60	1	0.5	0.5
60	0.92	0.54	0.52	1.00	0.56	0.58	1	0.5	0.5
70	0.93	0.54	0.52	1.00	0.56	0.57	1	0.5	0.5
80	0.94	0.53	0.52	1.00	0.55	0.57	1	0.5	0.5
90	0.95	0.53	0.52	1.00	0.55	0.56	1	0.5	0.5
100	0.95	0.53	0.52	1.00	0.54	0.55	1	0.5	0.5

VI. Reliability of total indexes according to the methods of combination and the number of progenies for example 1

Number of progenies	Methods		
	I	II	III
1	0.08	0.08	0.07
10	0.43	0.43	0.42
20	0.59	0.59	0.59
30	0.68	0.68	0.68
40	0.74	0.74	0.73
50	0.78	0.77	0.77
60	0.80	0.80	0.80
70	0.83	0.83	0.83
80	0.84	0.84	0.84
90	0.86	0.86	0.86
100	0.87	0.87	0.87

liabilities are compared, for example comparison of young with progeny tested bulls. If the amount of information for all bulls is approximately equal, the overestimation does not probably influence strongly the rank of animals.

EXAMPLE 2 TO 9

Results of examples 2 to 9 are similar to example 1. In all cases there is significant overestimation of breeding values when approximative methods (II and III) are used for the combination of partial breeding values. In some cases method II is a little better than method III, in some cases the advantage is for method III. In more cases an advantage for method III exists.

CONCLUSION

Approximative methods for combination of partial breeding values to the total index overestimate the total breeding value. This overestimation is strong for cases with low number of observations (low reliability of the partial breeding values). This is dangerous for a direct comparison of animals with different amount of information (different reliability).

The combination of partial breeding values to the total index is necessary to do with the real covariance matrix between the breeding values (P) and by the real covariance matrix of breeding values to the genotype (G).

VII. Value of indexes according to the methods of combination and the number of progenies for example 1

Number of progenies	Methods		
	I	II	III
1	1.3	2.5	1.6
10	9.2	12.6	10.2
20	13.7	16.8	14.7
30	16.5	19.1	17.4
40	18.4	20.5	19.2
50	19.7	21.6	20.4
60	20.7	22.4	21.4
70	21.5	23.0	22.1
80	22.1	23.5	22.7
90	22.6	23.9	23.2
100	23.1	24.2	23.6

REFERENCES

- CUNNINGHAM, E. P.: Selind, a fortran computer program for genetic selection indexes. User's guide. Dublin, Ireland, An Foras Taluntais, Dunsinea, Catlenknock, Co. 1970.
- CUNNINGHAM, E. P.: Multi-stage index selection. *Theor. Appl. Genet.*, 46, 1975: 55-61.
- KÜNZI, N.: Zuchtwertschätzung: Eine kurze flexible Formulierung für die Berechnung von Selektionsindizes. Inst. für Tierzucht ETH, Zürich, 1975.
- MIELLENZ, N. - SCHÜLER, L.: Requirements on genetic correlations in multivariate breeding value estimation. In: 47th Ann. Meet. EAAP, Lillehammer, Norway, 25-29 August 1996.
- PŘIBYL, J.: Derivation of breeding value estimation. *Scientia Agric. Bohem.*, 18, 1986: 41-56.
- PŘIBYL, J. - PŘIBYLOVÁ, J.: The use of BLUP method for the construction of selection indexes in egg-laying poultry. *Scientia Agric. Bohem.*, 23, 1991: 135-144.
- SCHNEEBERGER, M. - BARWICK, S. A. - CROW, G. H. - HAMMOND, K.: Economic indices using breeding values predicted by BLUP. *J. Anim. Breed. Genet.*, 109, 1992: 180-187.
- SWALVE, H.: Genetic parameters for test-day models. In: Interbull Ann. Meet., Aarhus, 19-20. 8. 1993. Interbull Bulletin No. 8, 1993.
- VAN VLECK, L. D.: Notes on the theory and application of selection principles for the genetics improvement of animals. Cornell Univ., 1981.

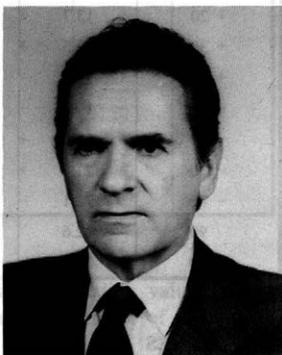
Received for publication on December 10, 1996

Contact Address:

Doc. Ing. Josef Přibyl, DrSc., Výzkumný ústav živočišné výroby, 104 00 Praha 10-Uhřetěves, Česká republika, tel.: 02/67 71 17 47, fax: 02/67 71 07 79

K sedmdesátinám prof. Ing. Zdeňka Župky, DrSc.

V plné životní síle a pracovním elánu se dne 30. června dožil sedmdesátých narozenin prof. Ing. Zdeňk Župka, DrSc., profesor zootechnického oboru Agronomické fakulty Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně.



Jubilant se narodil v Počenicích v okrese Kroměříž. Po ukončení středoškolského studia v roce 1974 byl přijat ke studiu na Vysoké škole zemědělské v Brně, které ukončil v roce 1951. Po absolvování vysoké školy nastoupil na VŠZ jako tajemník tehdejší Zemědělské fakulty. V roce 1952 byl přijat do interní vědecké přípravy, kterou ukončil v roce 1955 obhajobou kandidátské disertační práce. V roce 1955 přestoupil jako odborný asistent na Zootechnickou fakultu – katedru obecné zootechniky, kterou vedl prof. Ing. dr. Vladimír Koželuha.

Prof. Ing. Zdeňk Župka, DrSc., působil pedagogicky na VŠZ více než 40 let. Posluchači a absolventi zemědělského vysokoškolského studia v ČR i SR znají pana profesora také jako spoluautora řady odborných knih a jako autora téměř 20 učebních vysokoškolských textů ze zootechnického oboru a člena komise pro státní závěrečné zkoušky. Byl rovněž spoluautorem vysokoškolské učebnice *Obecná zootechnika*. Mimo jiné byl po několik funkčních období proděkanem Provozně ekonomické fakulty a Agronomické fakulty a mimo školu členem celostátních komisí souvisejících s pedagogickou činností.

Od skončení studia prakticky až do současnosti měl vždy velmi úzké kontakty se zemědělskou výrobou. Tato činnost byla výrazně ovlivněna motivací jeho vědecko-výzkumné práce, která byla soustředěna především

do oblasti produkce hovězího masa. V uvedené oblasti jeho výzkumné činnosti publikoval více než sto původních vědeckých prací, které jsou stále citovány v domácí i zahraniční literatuře.

Ve svém odborném působení obhájil řadu závěrečných zpráv výzkumných úkolů směřovaných k obecným otázkám růstu a vývinu hospodářských zvířat, spojených s problematikou masné užitkovosti a jatečné hodnoty u skotu, prasat a drobných hospodářských zvířat. Kromě toho, že je autorem a spoluautorem velké řady titulů vědeckých a odborných prací, oponoval značný počet závěrečných zpráv, kandidátských a habilitačních prací a příspěvků do odborných časopisů a přímo řídil zpracovávání více než 140 diplomových prací posluchačů VŠZ. Byl členem komisí pro obhajoby kandidátských disertačních prací na VŠZ v Brně a VŠZ v Praze v oboru speciální zootechnika a členem vědecké rady zootechnické sekce AF VŠZ. Profesor Župka po více roků působil na VŠZ v Českých Budějovicích jako předseda komise pro státní závěrečné zkoušky posluchačů a byl členem státních zkušebních komisí na VŠZ v Brně.

Svými znalostmi a bohatými odbornými zkušenostmi se aktivně podílel na zpracování sjednocených metodik pro jatečné rozboru a hodnocení kvality masa určených pro výzkumná pracoviště a zemědělské vysoké školy.

Jeho velmi dobré jazykové znalosti spolu s odbornou fundovaností mu umožnily reprezentovat náš zootechnický obor nejen při krátkodobých služebních cestách v zahraničí, ale i při delších studijních pobytech v Dánsku, Německu a Finsku.

Osobnost prof. Ing. Zdeňka Župky, DrSc., je dobře známá v naší zootechnické i v celé zemědělské veřejnosti po stránce jeho odborné činnosti. V okruhu své působnosti je oblíbený i pro svou veselou povahu a čestné jednání.

Za všechny jeho přátele přejeme panu profesorovi do dalších let života hodně zdraví, spokojenosti a životní pohody.

Pracovníci oddělení obecné zootechniky Ústavu chovu hospodářských zvířat MZLU v Brně

ANALÝZA VÝVOJE ŽIVÉ HMOTNOSTI BROJLERŮ POMOCÍ SAMOREGULAČNÍHO MODELU RŮSTU

ANALYSIS OF BROILER LIVE WEIGHT CURVE BY MEANS OF A SELF-REGULATING GROWTH MODEL

L. Novák¹, V. Kotrbáček², Z. Holešovská²

¹Medical Faculty at Masaryk University, Brno, Czech Republic

²Veterinary and Pharmaceutical University, Brno, Czech Republic

ABSTRACT: A self-regulating growth model (SGM) used in this paper is based on a well-known prerequisite that the live weight gain of an animal is related to that portion of metabolizable energy which is available to the organism after ensuring energy output for thermoregulation and basic activities. The model uses input data that can be different from actual data. E.g. thermoneutral temperatures are used, the effect of stressors is not included, etc. Therefore the calculated values can be different from the values of actual growth. Comparison of the calculated and actual growth curves makes it possible to analyze the causes of differences. SGM was used to evaluate the growth of two broiler strains: HYBRO 90 and ROSS 208, which were kept under recommended conditions of thermal optimum but implemented in different technological systems. The main difference consisted in heat supply: thermal welfare was provided for the HYBRO group by electric infra-red heaters producing a limited space of thermal optimum only. Ceiling radiation panels were used to heat the whole space for the ROSS hybrid. The growth curve calculated by the model is the steepest of all, which is in accordance with the fact that SGM is based on the optimum utilization of feed energy for growth. The growth of ROSS broilers was approaching the theoretical curve more rapidly, and they significantly exceeded the growth of the HYBRO strain individuals in the first month of life ($P < 0.01$). The technological system of raising can be considered as the main cause of weight differences between both experimental groups. Chickens of ROSS strain were kept in the environment of heat welfare or approaching it. Broilers of HYBRO strain were regularly exposed to cold especially in the space of feeders. This undoubtedly contributed to the energy output for thermoregulation, and apparently had negative impacts on feed consumption. The feed consumption of ROSS group was not different from that calculated theoretically. Two aggregate measurements of diet consumption in the HYBRO group, on the 21st and 56th days, respectively, were also on the curve calculated by the model. Hence it is possible to conclude that the pattern of important parameters can also be determined from partial results, such as feed intake and feed conversion. Both experimental groups significantly differed in the latter parameter in the first month of life, when the ROSS strain highly exceeded the HYBRO group. High thermoregulation outputs of this group are confirmed in this way. Rapid worsening of the conversion capacity of ROSS broilers after the 28th day of life coincided with the changes in the energy content of live weight gain as calculated by the model. These changes result from the increased lipid deposition.

weight growth; growth modelling; nutrition; environmental temperature

ABSTRAKT: V práci použité samoregulační model růstu (SMR) vychází ze známého předpokladu, že přírůstek hmotnosti jedince závisí na dílu metabolizovatelné energie, která je organismu k dispozici po zabezpečení energetických výdajů na termoregulaci a základní aktivitu. Model pracuje se vstupními daty, která se mohou lišit od dat skutečných (např. pracuje s termoneutralní teplotou, nezahrnuje vliv stresorů apod.), proto se vypočtený výsledek může lišit od skutečného růstu. Porovnání vypočtené a skutečné růstové křivky pak umožňuje rozbor příčin, které diferencí způsobují. Tento postup byl použit při hodnocení růstu dvou linií brojlerů, a to linie HYBRO 90 a ROSS 208, chovaných v doporučených, ale technologicky různě realizovaných podmínkách tepelného optima. Hlavní rozdíl se týkal způsobu dotace tepla, kdy u skupiny HYBRO byla tepelná pohoda zajišťována elektrickými infrazářiči (EIZ), vytvářejícími jen omezenou plochu tepelného optima, zatímco u skupiny ROSS byla odchovna vytápěna celoplošně, stropními radiačními panely. Další rozdíly se týkaly i častější manipulace s jedinci HYBRO. Modelem vypočítané růstové křivce, která byla nejstrmější, se více blíží růst brojlerů ROSS, kteří průměrnou hmotností dosahovanou v prvním měsíci života významně převyšovali jedince linie HYBRO ($P < 0,01$). Pobyt brojlerů HYBRO mimo EIZ znamenal zvýšení výdaje na termoregulaci a zřejmě ovlivnil negativně i příjem krmiva. Nelze však pominout i možný vliv rozdílného stupně manipulace s touto skupinou. Spotřebou krmiva se skupina ROSS od teoretického výpočtu nelišila. Dvě souhrnná měření spotřeby krmiva u skupiny HYBRO, a to k 21. a 56. dnu, rovněž ležela na modelem vypočítané křivce. Z toho lze usoudit, že i z dílčích výsledků lze určit průběh významných parametrů, jako je spotřeba a následně i konverze krmiva. V tomto ukazateli se obě pokusné skupiny podstatně lišily v prvním měsíci života,

kdy linie ROSS konverzní schopností výsoce převyšovala skupinu HYBRO. Rychlé zhoršování konverzní schopnosti brojlerů ROSS po 28. dnu života koincidovalo se změnami v energetickém obsahu přírůstku živé hmotnosti, vypočítanými modelem, které souvisí se zvýšením obsahu lipidů,

brojleři; růst hmotnosti; modelování růstu; výživa; teplota prostředí

ÚVOD

Modelování růstu živé hmotnosti zvířat má v posledních desetiletích stále větší praktický význam. Např. pro výrobu kuřecího masa ve velkých kombinátech lze využít Emmansův model (Emmans, 1981, 1987), Hurwitzův model (Hurwitz et al., 1978, 1980), popř. Pestihův kvadratický model (Pesti et al., 1986). Tyto modely se snaží integrovat všechny podstatné faktory ovlivňující růstovou rychlost a jejich optimalizací přispět k maximálnímu efektu výkrmu. Komerční verzi Emmansova modelu je např. Fortel TM firmy Heartland Lysine nebo Chickopt TM, nabízený výzkumnou organizací ARO. Nedostatkem programování růstu v uvedených modelech je skutečnost, že platnost používaných matematických koeficientů je přísně vymezena podmínkami, za kterých byly experimentálně získány (Emmans, 1995).

V tomto sdělení použitý samoregulační model růstu (SMR), který publikoval Novák (1994a, b, 1995, 1996a, b), simuluje růst živé hmotnosti z reálných dat o příjmu energie v denních krmných dávkách, výchozí reálné hmotnosti (G ; kg) a průměrné hmotnosti dospělých jedinců (GLi ; kg) (převzato z tabelárních údajů firmy ROSS Xaverov). Struktura SMR vychází z obecných biologických, fyziologických a biofyzikálních zákonitostí. Samoregulační model růstu pracuje výlučně s hodnotami vyjadřovanými v SI jednotkách, je tudíž obecně použitelný. Na rozdíl od jiných růstových funkcí nevyžaduje předchozí experimenty ke stanovení výpočtových koeficientů pro růstovou funkci. Přírůstek živé hmotnosti homiotherma je v SMR odvozen z dílu metabolizovatelné energie, která je organismu k dispozici po zabezpečení energetických výdajů, především na termoregulaci a základní fyzickou aktivitu. Struktura modelu umožňuje proto vyčíslit i potřebu metabolizovatelné energie nutnou k dosažení určitého přírůstku živé hmotnosti a vyjádřit ji v denních krmných dávkách (Novák, Pípalová, 1996).

Vzhledem k tomu, že samoregulační model pracuje se vstupními daty, která se mohou odlišovat od dat skutečných (např. pracuje s optimální teplotou prostředí), vypočtený výsledek se může od skutečného růstu zvířat lišit. Porovnání vypočítaného růstu s jeho skutečným průběhem pak umožňuje analýzu příčin, které se na této diferenci mohou podílet.

Takovýto postup byl použit i v předložené práci, kdy byly modelem (SMR) vyhodnoceny rozdíly v růstu živé hmotnosti dvou linií brojlerů chovaných v teplotních podmínkách doporučených dodavatelem kuřat jako optimální. Technické zabezpečení těchto teplotních

podmínek však bylo rozdílné a také manipulace s pokusnými jedinci v průběhu odchovu nebyla v obou případech shodná.

MATERIÁL A METODA

Do pokusů byly zařazeny dvě skupiny jednoduchých brojlerů. Skupina HYBRO byla chována na podestýlce z hoblin. Tepelný režim byl zajišťován infralampami (EIZ) a kontrolován v souladu s ON pomocí elektrického dynamického katetermetru. Příjem krmné směsi BR1 do 21. dne a BR2 od 21. dne byl zjišťován souhrnně vážením. Voda byla, stejně jako krmivo, podávána *ad libitum*. Její spotřeba měřena nebyla. Růst živé hmotnosti brojlerů byl zjišťován individuálním vážením při zahájení experimentu, na konci prvního týdne života a dále v týdenních intervalech. Ve věku 22 dnů byla kuřatům aplikována vakcína proti Newcastleeské nemoci (Avipest, Mevak Nitra) a ve 33., 44. a 56. dnu jim byla odebrána krev.

Druhá skupina brojlerů ROSS 208 byla chována rovněž na podestýlce z hoblin. Vytápění odchovny bylo celoplošné, zajišťované stropními radiačními panely. Regulace teploty vzduchu byla prováděna automatickou teplotěrnou sondou umístěnou 0,4 m nad povrchem podlahy. Teplota odchovny se pohybovala v rozmezí doporučeném dodavatelem kuřat (Xaverov, a. s., Praha).

Příjem krmných směsí podávaných *ad libitum* byl zjišťován denním vážením. Voda byla rovněž k dispozici bez omezení. Její spotřeba měřena nebyla. Kuřata byla individuálně vážena při zahájení experimentu a dále v týdenních intervalech. K jiné manipulaci s nimi nedocházelo.

K hodnocení růstu živé hmotnosti obou skupin brojlerů byl použit samoregulační model růstu (SMR) – Novák (1994a, b, 1995, 1996a, b). Růst hmotnosti je v modelu prováděn integrací denních přírůstků dG/dt definovaných rovnicí

$$\frac{dG}{dt} = \frac{0,19348 \cdot n - 0,28650}{\text{MOBEG}} \cdot \left[G^{3/4} - \frac{G^{7/4}}{GLi} \right] \text{ [kg/kus/den]} \quad (1)$$

kde: G – hmotnost jedince daného věku v kg
 GLi – hmotnost dospělého jedince v kg
MOBEG – měrný obsah brutto energie v denním přírůstku hmotnosti vypočítaný podle rovnice
MOBEG (MJ/kg) = $22,180 \cdot \text{proteiny} + 17,158 \cdot \text{sacharidy} + 38,920 \cdot \text{tuky}$

(n) je bezrozměrné číslo vyjadřující, kolikrát přijatá metabolizovatelná energie převyšuje standardní energetický metabolismus vypočítaný podle Kleibera (1961), $SM = k \cdot G^{3/4}$ [MJ/kus/den], ($k = 0,302$).

Vztah koeficientu (n) k denní krmné dávce (DKD; kg/kus/den) pro krmivo s měrným obsahem metabolizovatelné energie (MOMEK; MJ/kg) je pak vyjádřen vztahem

$$n = \frac{DKD \cdot MOMEK}{k \cdot G^{3/4}} \quad (2)$$

Z rovnice (1) vyplývá, jak přírůstek hmotnosti dG/dt závisí na hodnotě (n), obsahu brutto energie přírůstku a hodnotách aktuální hmotnosti G , která spolu s hmotností dospělého organismu (GLi) tvoří samoregulační člen SMR. Z výrazu (2) jsou patrné vztahy mezi hodnotou (n), denní krmnou dávkou a měrným obsahem metabolizovatelné energie krmiva. Uvedené vztahy byly využity ke konstrukci modelové růstové křivky prokládané množinou naměřených hodnot růstu hmotnosti i naměřenými údaji spotřeby krmiva u obou skupin brojlerů. Hodnoty (n) byly voleny tak, aby bylo dosaženo nejmenších rozdílů mezi vypočtenými a experimentálními údaji. Pro takto stanovené hodnoty (n) pak byly vypočteny i další potřebné údaje, např. denní spotřeba krmiva (DKD) a konverze krmiva.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Údaje o vývoji živé hmotnosti, spotřebě krmiva i teplotných podmínkách odchovu jsou uvedeny v tab. I. Vstupní data použitá v samoregulačním modelu včetně

hodnot (n) použitých k proložení modelové křivky daty získanými experimentálně jsou uvedena v tab. II.

Obr. 1 pak tuto křivku (plná čára) zobrazuje a srovnává s růstem skutečným. Vypočtený průběh růstových křivek (přerušovaná čára) má u obou skupin brojlerů méně strmý průběh. Normované růstové křivce se více blíží růst brojlerů linie ROSS, kteří do 35. dne života průměrnou hmotností významně převyšovali brojlerů skupiny HYBRO ($P < 0,01$).

V souladu s těmito výsledky se vyvíjela i denní spotřeba krmiva, kdy její nižší hodnoty byly zjištěny u skupiny HYBRO (obr. 2). Je třeba uvést, že toto srovnání bylo možné provést díky modelu, který vývoj denní spotřeby (plné trojúhelníky) vypočítal ze dvou souhrnných měření tohoto parametru, a to k 21. a 56. dni života. Z obr. 2 je zároveň patrné, že obě naměřené hodnoty (prázdné čtverce) leží v těsné blízkosti teoreticky vypočítané křivky. U skupiny ROSS je pak shoda mezi vypočítanými (plná čára) a naměřenými hodnotami spotřeby diety (plné čtverce) zcela zřejmá (obr. 2).

Vývoj konverze krmiva je znázorněn na obr. 3. Největší rozdíly mezi oběma skupinami byly nalezeny v prvních týdnech života, kdy skupina ROSS podstatně účinněji využívala podávané krmivo. Avšak ve druhém měsíci sledované hodnoty u této linie rychle stoupaly a difference mezi oběma skupinami se vyrovnaly.

Skutečnost, že růst pokusných brojlerů zaostával za růstem vypočítaným SMR, není překvapující. Model totiž vypočítal teoretickou růstovou křivku v souladu

I. Přehled experimentálních hodnot pokusů HYBRO 90 a ROSS 208 – Summary of experimental data in series HYBRO 90 and ROSS 208

Věk (dny) ¹	Počet jedinců ²	Živá hmotnost ³ (kg)	Spotřeba krmiva ⁴		Teplota (°C)	
			denní ⁵ (kg/kus/den)	celková ⁶ (kg/kus)	Ta1 ⁷	Ta2 ⁸
Skupina HYBRO 90 – The group HYBRO 90						
0	30	0,05 ± 0,000			31,5	22,3
7	30	0,08 ± 0,002			31,5	22,3
14	30	0,19 ± 0,005			27,3	22,3
21	30	0,41 ± 0,011		0,856	26,2	22,3
28	30	0,71 ± 0,023			24,2	22,3
35	20	1,24 ± 0,057			24,2	22,3
42	10	1,80 ± 0,064			24,2	22,3
49	10	2,27 ± 0,086			24,2	22,3
56	10	2,67 ± 0,088		6,864	24,2	22,3
Skupina ROSS 208 – The group ROSS 208						
0	35	0,05 ± 0,001			31,0	31,0
7	35	0,12 ± 0,002	0,018	0,126	29,4	29,4
14	35	0,28 ± 0,012	0,043	0,427	28,1	28,1
21	35	0,63 ± 0,013	0,078	0,973	24,0	24,0
28	35	1,03 ± 0,021	0,099	1,666	20,6	20,6
35	35	1,60 ± 0,032	0,165	2,821	19,9	19,9
42	35	2,02 ± 0,037	0,200	4,221	19,0	19,0

¹age (days), ²number of individuals, ³live weight (mean ± standard error), ⁴feed consumption, ⁵daily, ⁶cumulative, ⁷temperature under infrared heaters, ⁸temperature outside infrared heaters

II. Přehled experimentálních vstupních dat MOMEK a (n) spolu s odpovídajícími hodnotami MOBEG – Summary of experimental input data MOMEK and (n), together with the corresponding MOBEG values

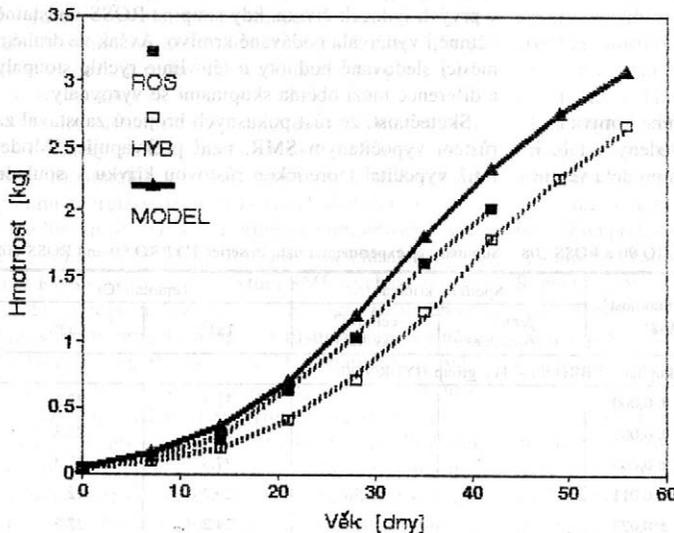
Skupina ¹ HYBRO 90				Skupina ¹ ROSS 208			
Věk (dny) ²	MOBEG (MJ/kg)	MOMEK (MJ/kg)	(n)	věk (dny) ²	MOBEG (MJ/kg)	MOMEK (MJ/kg)	(n)
0	3,50		2,50	0	3,50		3,50
7	5,00	11,97	4,00	7	4,00	12,40	3,80
14	5,00	11,97	4,55	14	4,00	12,50	4,55
21	6,00	11,97	4,50	21	6,00	12,50	4,50
28	6,00	12,30	4,50	28	5,00	12,50	4,20
35	6,00	12,30	5,00	35	8,00	13,00	4,80
42	6,00	12,30	4,50	42	8,00	13,00	4,80
49	6,00	12,30	5,00				
56	6,00	12,30	5,00				

MOMEK = specific metabolisable energy of feed

MOBEG = specific gross energy of body mass

(n) = multiple of standard metabolism

¹experimental group, ²age (days)

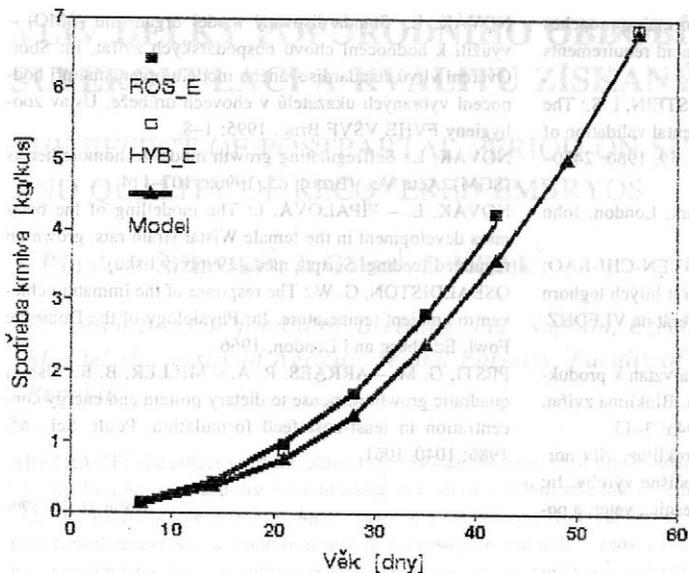


1. Experimentální hodnoty růstu hmotnosti brojlerů skupiny HYBRO 90 (HYB) a ROSS 208 (ROS), porovnání s hodnotami vypočtenými samoregulačním modelem růstu pro ideální podmínky (MODEL) – Experimental values of body mass growth in the broiler group HYBRO 90 (HYB) and the group ROSS 208 (ROS), compared with the values calculated by the self-regulating growth model (MODEL), dashed lines. Abscissa: age in days, ordinate: body mass in kg

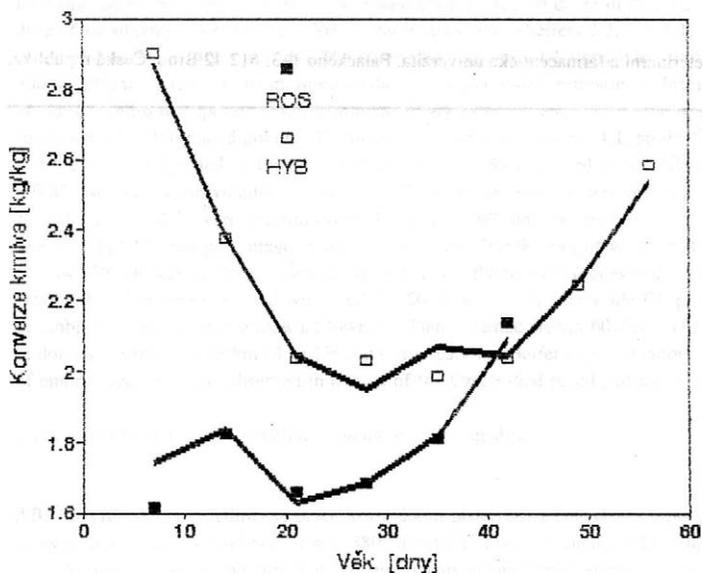
s údaji dodavatele o růstových schopnostech linie ROSS v optimálních podmínkách, tedy především za dodržení minimální aktivity a komfortní teploty prostředí. Vzhledem k uspořádání pokusů nebylo samozřejmě možné vyhnout se rušení zvířat. Je třeba zdůraznit, že častěji bylo manipulováno se skupinou HYBRO. Druhým důvodem růstové difference byl zřejmě vliv rozdílného způsobu vytápění odchoven. U skupiny HYBRO byl tepelný komfort zajišťován infrazářiči. Teploty vzduchu v místnosti (20 °C) se pohybovaly již značně pod zónou termoneutrality (Kotrbaček et al., 1971). Pobyt v takovém prostředí přináší zvýšené energetické výdaje na termoregulaci a snižuje tak podíl metabolizovatelné energie využitelný pro přírůstek hmotnosti. Potvrzuje to i vysoká spotřeba krmiva na

jednotku přírůstku nalezená u linie HYBRO v prvních týdnech života (obr. 3). Vedle přímého vlivu nízkých teplot prostředí na konverzi krmiva je třeba zdůraznit i dávno známý účinek teploty prostředí na chování kuřat, která obvykle zkracují pobyt mimo oblast komfortní zóny, tzn. zkracují i dobu pobytu u krmítek, jsou-li vystavena chladové zátěži (Osbaldiston, 1966).

Celoplošné vytápění odchovny u skupiny ROSS zmíněné nepříznivé faktory zřejmě tlumilo, s čímž také koinciduje i vyšší spotřeba krmiva této linie (obr. 2). V obr. 3 zasluhuje pozornost rychlý pokles konverzní schopnosti brojlerů ROSS ke konci prvního a zejména ve druhém měsíci života. Nepřímé stanovení brutto energie přírůstku (tab. II) ukazuje, že v tomto věku dochází k prudkému vzestupu tohoto parametru, což svěd-



2. Experimentální hodnoty kumulované spotřeby krmiva ve skupině HYBRO 90 (HYB) a ROSS 208 (ROS), proložené křivkami hodnot vypočtených samoregulačním modelem růstu (Model) – Experimental values of cumulated feed consumption in the broiler group HYBRO 90 (HYB) and the group ROSS 208 (ROS), compared with the values calculated by the selfregulating growth model (Model), (dashed lines). Abscissa: age in days, ordinate: cumulated feed consumption in kg/individual



3. Průběh konverze krmiva ve skupině brojlerů HYBRO 90 (HYB) a skupině ROSS 208 (ROSS), porovnání s výpočty samoregulačního modelu růstu (plně čáry) – The course of feed conversion in the broiler group HYBRO 90 (HYB) and the group ROSS 208 (ROS). The solid lines represent the values calculated by the selfregulating growth model. Abscissa: age in days, ordinate: values of feed conversion in kg of feed/kg of body weight

či o rostoucím podílu lipidů na přírůstcích živé hmotnosti, jak to ukazují data ve sloupci MOBEG v tab. II.

Závěrem lze konstatovat, že modelem vypočítaná data o růstu hmotnosti, spotřebě a konverzi krmiva aproximují velmi dobře data experimentální. Nemusí se však s nimi shodovat v situaci, kdy se skutečné podmínky pokusu liší od zadaných optimálních hodnot. Právě tato okolnost umožňuje včas hledat příčiny zjištěných diferencí a nalézat možné rezervy v ekonomice chovu.

LITERATURA

- EMMANS, G. C.: A model of the growth and feed intake of *ad libitum* fed animals, particularly poultry. Computer in Animal Production. Occ. Publ. Br. Soc. Anim. Prod., 5, 1981: 103–110.
- EMMANS, G. C.: Growth, body composition and feed intake. *Wld Poultr. Sci. Assoc.*, 43, 1987: 208–225.
- EMMANS, G. C.: Descriptions of pig growth and food intake using empirical regression models. In: Proc. 46th Ann. Meet. of the EAAP, Prague, 1995.

- HURWITZ, S. S. – BARTOV, D.: New formal approaches to the determination of energy and amino acid requirements of chicks. *Poult. Sci.*, 57, 1978: 197–205.
- HURWITZ, S. S. – BARTOV, D. – BORNSTEIN, I. S.: The amino acid requirements of chicks experimental validation of model calculated requirements. *Poult. Sci.*, 59, 1980: 2470–2479.
- KLEIBER, M.: *The Fire of Life*. New York, London, John Wiley 1961: 211–212.
- KOTRBÁČEK, V. – HOLUB, A. – NGUEN-CHI-BAO: Srovnání některých změn spotřeby O₂ u kuřat bílých leghorn brojlerů od vylíhnutí do 2 měsíců stáří. Referát na VLFDHZ, Liblice, 12. 12. 1971.
- NOVÁK, L.: Tepelné mikroklima, měření a vztah k produktivitě chovu hospodářských zvířat. In: Sbor. Bioklima zvířat, Ústav zoohygieny FVHE VŠVF Brno, 1994a: 3–15.
- NOVÁK, L. – NOVÁK, P.: Tepelné mikroklima, vliv normovaných hodnot na tvorbu produktů živočišné výroby. In: JANÁL, R. (ed.): Sbor. pro vědy zeměd., lesnic., veter. a potravní, Praha, 1994b: 138–140.
- NOVÁK, L.: Standardisovaný model organismu (SMO) – využití k hodnocení chovu hospodářských zvířat. In: Sbor. Ověření vlivu standardisovaného modelu organismu při hodnocení vybraných ukazatelů v chovech drůbeže, Ústav zoohygieny FVHE VŠVF Brno, 1995: 1–8.
- NOVÁK, L.: Selfregulating growth model in homoiotherms (SGM). *Acta Vet. (Brno)*, 65, 1996a: 107–114.
- NOVÁK, L. – PÍPALOVÁ, I.: The modelling of the body mass development in the female Wistar strain rats, grown on regulated feeding. *Scripta med.*, 1996b (v tisku).
- OSBALDISTON, G. W.: The response of the immature chicken to ambient temperature. In: *Physiology of the Domestic Fowl*. Edinburgh and London, 1966.
- PESTI, G. M. – ARRAES, R. A. – MILLER, B. R.: Use of quadratic growth response to dietary protein and energy concentration in least-cost feed formulation. *Poult. Sci.*, 65, 1986: 1040–1061.

Došlo 11. 12. 1996

Kontaktní adresa:

Doc. Ing. Václav Kotrbáček, CSc., Veterinární a farmaceutická univerzita, Palackého 1–3, 612 42 Brno, Česká republika, tel.: 05/41 32 11 07, fax: 05/41 21 11 51

VLIV DÉLKY POPORODNÍHO OBDOBÍ NA SUPEROVULACI A KVALITU ZÍSKANÝCH EMBRYÍ*

THE EFFECT OF POSTPARTAL PERIOD ON SUPEROVULATION AND QUALITY OF RECOVERED EMBRYOS

J. Říha¹, J. Žižlavský², J. Golda¹, J. Mikšík²

¹ *Research Institute for Cattle Breeding, Ltd, Rapotín, Czech Republic*

² *Mendel University of Agriculture and Forestry, Faculty of Agronomy, Brno, Czech Republic*

ABSTRACT: The objective of this study is to evaluate the position of superovulation with respect to its use in cattle breeding. The results were analyzed that were obtained in a set ($n = 1,380$) of donors (heifers, primiparas and cows of milk breeds) in order to determine the effect of donor parity and the interval from calving to superovulation estrus on stimulation level, nonsurgical recovery and embryo quality in dual-purpose and milk breeds and their crossbreds. The sexual cycle of donors was synchronized by two applications of the analog prostaglandin F2 alpha (Oestrophan, Léčiva Praha) within a 11-day interval. The preparation Follicotropin, Spofa Praha, was applied i.m. from the 9th to the 11th day of the sexual cycle in the morning and in the evening (7.00; 19.00 hours) for four days at doses of 2.3; 3.2; 1.1; 1.1 ampoules of the preparation (total dose of 14 ampoules, i.e. 560 i.u. FSH) to dairy cows and to heifers 2.2; 1.1; 1.1; 1.1 ampoules of the preparation (total dose of ten ampoules, i.e. 400 i.u. FSH). The analog prostaglandin F2 alpha (Oestrophan, Léčiva Praha) was applied at a dose of 500 to 750 micrograms in the morning on day 3 of superovulation treatment. Insemination and reinsemination were executed on days 5 and 6 of superovulation treatment. Analyses of variance and covariance were used for statistical data processing. In the set of 1,380 treated donors, 97 donors (7%) were without any CL production, 274 donors (19.8%) produced 1–2 CL and they were subjected to flushing, 170 donors (12.3%) produced 0 to 2 CL and no flushing followed, and 839 donors (60.8%) showed superovulation responses (3 CL and more) at rectal checks before embryos were recovered. In total, $12,501 \pm 11,751$ CL ($v = 4\%$) were determined in the set of 1,380 donors, ovum recovery showed the average value $8,831 \pm 10,08$ ova ($v = 114.1\%$, the percentage in the CL number is 70.6%), out of which $5,885 \pm 8,445$ embryos were transferable ones ($v = 143.5\%$, the percentage of transferable embryos in the recovered ones makes 66.6%). The best quality of embryo recovery was observed in donors treated within 60 to 100 days after calving while CL production as well as the number and quality of embryo recovery were somewhat lower in donors treated within 60 days. The best superovulation results were achieved in donors inseminated within 61 to 150 days after calving. Heifer superovulation was a little less successful. The best quality of embryo recovery was observed in donors of the Czech Pied breed and its crossbreds with Ayrshire breed.

cattle; reproduction; superovulation; donors; embryo; quality

ABSTRAKT: Cílem předložené práce je zhodnotit postavení superovulace z pohledu jejího využití ve šlechtění skotu. Byly analyzovány výsledky souboru ($n = 1\ 380$) dárkyň (jalovic, prvotetek a krav dojených plemen) s cílem zjistit vliv parity dárkyň a délky intervalu od otelení do superovulační říje na úroveň stimulace, nechirurgický zisk a kvalitu embryí kombinovaných a mléčných plemen a jejich kříženců. Pohlavní cyklus dárkyň byl synchronizován dvěma aplikacemi analogu prostaglandinu F2 alfa (Oestrophan, Léčiva Praha) v 11denním intervalu. Preparát FSH Follicotropin, Spofa Praha, byl aplikován i.m. od 9. až 11. dne pohlavního cyklu ráno a večer (7.00; 19.00 hod.) po čtyři dny v dávkách 2,3; 3,2; 1,1; 1,1 ampulí preparátu (celková dávka 14 ampulí, tj. 560 m.j. FSH) pro krávy a 2,2; 1,1; 1,1; 1,1 ampulí preparátu (celková dávka 10 ampulí, tj. 400 m.j. FSH) pro jalovice. Analog prostaglandinu F2 alfa (Oestrophan, Léčiva Praha) byl aplikován třetí den superovulačního ošetření ráno v dávce 500 až 750 μg . Inseminace a reinseminace byla provedena 5. a 6. den superovulačního ošetření. Ke statistickému vyhodnocení bylo použito metody analýzy variance a kovariance. Ze souboru 1 380 ošetřených dárkyň bylo 97 dárkyň (7 %) bez odezvy, 274 dárkyň (19,8 %) s odezvou 1–2 CL, u kterých byl proveden výplach, 170 dárkyň (12,3 %) s odezvou od 0 do 2 CL, které nebyly vyplachovány, a 839 dárkyň (60,8 %) se superovulační odezvou (3 CL a více) při rektální kontrole před odběrem embryí. Celkem bylo u souboru 1 380 dárkyň zjištěno $12,501 \pm 11,751$ CL ($v = 94 \%$), získáno bylo průměrně $8,831 \pm 10,08$ vajíček ($v = 114,1 \%$, podíl z počtu CL činí 70,6 %), ze kterých bylo $5,885 \pm$

* Výzkum byl finančně podporován Grantovou agenturou České republiky (č. projektu 507/94/0343) a Ministerstvem zemědělství ČR (č. projektu 2413).

8,445 embryí vhodných k přenosu ($v = 143,5 \%$, podíl vhodných embryí ze získaných činil 66,6 %). Nejlepší kvality získaných embryí bylo dosaženo u dárkyň ošetřených od 60 do 100 dnů po otelení, přičemž u zvířat ošetřených do 60 dnů byla poněkud nižší odezva i množství a kvalita získaných embryí. Nejlepších výsledků superovulace bylo dosaženo u dárkyň inseminovaných v intervalu 61 až 150 dní po otelení. Superovulace jalovic byla poněkud méně úspěšná. Nejlepší kvalita získaných embryí byla zjištěna u dárkyň plemene české strakaté a jeho kříženců s plemenem ayrshire

skot; reprodukce; superovulace; dárkyňe; embryo; kvalita

ÚVOD

Zvládnutí nechirurgických postupů odběru a přenosu embryí dalo reálnou šanci zařadit přenos embryí do reprodukce a šlechtění (Land, Hill, 1975). Systematické využívání superovulace a přenosu embryí ve šlechtění mléčného skotu nastínil Nicholas a Smith (1983).

Základním problémem všech experimentálních i praktických MOET systémů je úspěšnost superovulace dárčovských zvířat a zisk potřebného počtu přenosuschopných embryí.

V MOET systémech jsou využívány jako dárkyňe embryí krávy a jalovice selektované na základě informací o vlastní mléčné užitkovosti („adultní systém“) nebo užitkovosti rodičů-předků („juvenilní systém“). V adultním schématu jsou dárkyňemi vysokoprodukční dojnice na vrcholu laktace, v juvenilním schématu pak jalovice.

V praxi MOET systémů je průměrný počet získaných embryí na jeden odběr čtyři až sedm (Callesen et al., 1992, 1994; Lohuis et al., 1993; Reinders et al., 1994; Lange, 1995; McGuirk, 1995). Tento zisk je odpovídající a uspokojivý pro mladé jalovice i vysokoprodukční dojnice. Ve skutečnosti však 20 až 40 % dárkyň vykazuje na superovulační ošetření velmi nízkou odpověď, tj. produkují pouze od nuly do tří přenosuschopných embryí (Callesen et al., 1992; Christie et al., 1992). Tato skutečnost se objevuje častěji u krav než u jalovic (Callesen et al., 1994; Reinders et al., 1994). Existuje velká variabilita v zisku embryí a rozmezí činí od 0 do 35 přenosuschopných embryí (Christie et al., 1992; Lohuis et al., 1993; Callesen et al., 1994; Reinders et al., 1994).

Schopnost jalovic poskytnout embrya souvisí s nástupem puberty podmíněným především odpovídající výživou, protože nízká intenzita růstu i obezita dospívajících jalovic jsou z hlediska produkce embryí nevýhodné (Tregashes et al., 1996; Kinder et al., 1987; Hall et al., 1990). Dále je třeba brát v úvahu i změněné chování v říji, poruchy ovulace a inadekvátní *corpus luteum* na začátku puberty (Nelson et al., 1985; Moran et al., 1989).

Tregaskes et al. (1996) získali nejvíce embryí od peripubertálních jalovic (před superovulací u nich nebyla zjištěna říje), nejméně pak od jalovic, u kterých proběhly jedna až dvě říje.

Jednou z předností MOET systémů je zkrácení generačního intervalu, tj. průměrného věku rodičů při narození potomstva. Proto je nutné superovulovat dárky-

ně co nejdříve po otelení a využívat jako dárkyňe embryí jalovice. V tomto období mají především krávy stres z vysoké užitkovosti – energetická bilance bývá negativní nebo kolísá. Navíc v tomto čase postpartálního období bývá často jejich endokrinní stav a folikulární vývoj nedostačující (Boland et al., 1990).

Proto bývá stabilita (opakovatelnost) superovulační odezvy vždy nižší v časně fázi laktace než později (Callesen et al., 1996). Část potíží s nízkou odezvou je způsobena metabolickým stavem v tomto období, ale může se promítat i negativní vliv stresu na kvalitu oocytů s výsledkem redukce oplození ovulovaných oocytů (Britt, 1992; Kruij et al., 1995).

MATERIÁL A METODY

Byly analyzovány výsledky souboru ($n = 1\ 380$) dárkyň (jalovic, prvotetek a krav) s cílem zjistit vliv délky poporodního období (intervalu od otelení do superovulační říje) na úroveň stimulace, nechirurgický zisk a kvalitu embryí.

Pohlavní cyklus dárkyň byl synchronizován dvěma aplikacemi analogu prostaglandinu F2 alfa (Oestrophan, Léčiva Praha) v 11denním intervalu. Preparát FSH Folicotropin, Spofa Praha, byl aplikován i.m. od 9. až 11. dne pohlavního cyklu ráno a večer (7.00; 19.00 hodin) po čtyři dny v dávkách 2,3; 3,2; 1,1; 1,1 ampulí preparátu (celková dávka 14 ampulí, tj. 560 m.j. FSH) pro krávy a 2,2; 1,1; 1,1; 1,1 ampulí preparátu (celková dávka 10 ampulí, tj. 400 m.j. FSH) pro jalovice. Analog prostaglandinu F2 alfa (Oestrophan, Léčiva Praha) byl aplikován třetí den superovulačního ošetření ráno v dávce 500 až 750 μg . Inseminace a reinseminace byla provedena 5. a 6. den superovulačního ošetření. Nechirurgický odběr embryí byl proveden způsobem popsaným v práci autorů Říha, Landa (1986) a Říha (1990), sedmý den po 1. inseminaci; embrya byla izolována z vyplachovaného média (doplňně Krebs-Ringer fosfátem) a morfologicky hodnocena pod stereomikroskopem a kultivována v kompletním médiu s 20 % FCS (fetálního telecího séra) do dalšího použití (Říha, Landa, 1986).

Ke statistickému vyhodnocení bylo použito metody analýzy variance a kovariance (nejmenších čtverců) – Harvey (1977). Byl stanoven obecný průměr a odchylky způsobené sledovanými vlivy – tj. jalovice a dojnice v říji inseminované v různém intervalu od otelení a plemenná příslušnost dárkyň. Rovnice je uvedena v práci Říh y (1990).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Ze souboru ošetřených 1 380 dárkyň bylo při rektální kontrole před odběrem embryí zjištěno 97 dárkyň (7 %) bez odezvy, 274 dárkyň (19,8 %) s odezvou 1 až 2 CL, u kterých byl proveden výplach, 170 dárkyň (12,3 %) s odezvou od 0 do 2 CL, které nebyly vyplachovány, a 839 dárkyň (60,8 %) se superovulační odezvou (3 CL a více). Výplach byl proveden celkem u 1 113 dárkyň, tj. 80,6 % z ošetřených (tab. I).

I. Odezva dárkyň na superovulační ošetření – Donor responses to superovulation treatment

Kategorie dárkyň (podle počtu palpovaných CL) ¹	Počet ⁶	Podíl ⁷ (%)
Bez odezvy ²	97	7,0
1–2 CL s výplachem ³	274	19,8
0 až 2 CL bez výplachu ⁴	170	12,3
Superovulované dárkyň (nad 3 CL) ⁵	839	60,8

CL = žluté tělísko – *corpus luteum*

¹donor category (by the number of palpated CL), ²without any response, ³production of 1–2 CL with flushing, ⁴0–2 CL without flushing, ⁵superovulated donors (more than 3 CL), ⁶number, ⁷percent

Podíl zvířat se superovulační odezvou je na úrovni, kterou uvádějí Majerčíak (1981), Wierzbowski et al. (1978), Říha (1982, 1990), Callesen et al. (1996) a další; superovulační odezvy se dosáhlo u cca 60 až 70 % ošetřených zvířat. Betteridge (1977) zjistil superovulační odpověď u 76,5 % dárkyň. Říha et al. (1988) při obdobném vyhodnocení souboru 585 dárkyň superovulovaných Sérovým gonadotropinem zjistili superovulační odezvu u 60,5 % dárkyň. Grafenau et al. (1988) dosáhli po aplikaci preparátu FSH superovulační odezvu u 77,6 % dárkyň, když před ošetřením 16 % dárkyň vyloučili z použití. Vysokého podílu superovulovaných zvířat dosáhli Hasler et al. (1987). Callesen et al. (1996) a další uvádějí, že při selekci dárkyň na pozitivní odpověď na superovulační ošetření, prováděné v experimentálních i praktických MOET systémech, asi 50 až 80 % zvířat reaguje pozitivně.

Střední hodnoty ukazatelů, odhady odchylek a variační koeficienty jsou uvedeny v tab. II. Celkem bylo u souboru 1 380 dárkyň zjištěno 12,501 ± 11,751 CL ($v = 94$ %) a získáno průměrně 8,831 ± 10,08 vajíček ($v = 114,1$ %, podíl z počtu CL činí 70,6 %), ze kterých bylo 5,885 ± 8,445 embryí vhodných k přenosu ($v = 143,5$ %, podíl vhodných embryí ze získaných činí 66,6 %).

Úroveň stimulace zisku a kvality embryí byla vyšší, resp. srovnatelná s údaji uváděnými v literatuře, především domácí, týkající se superovulace dárkyň embryí skotu domácím preparátem FSH (Folicotropin). Po použití PMSG však bývá stimulace i zisk vajíček poněkud nižší. Úroveň stimulace v pracích autorů Kudláč et al. (1979), Říha (1982), Holý et al. (1987)

a Říha et al. (1988), získaná převážně preparáty PMSG, byla většinou nižší. Stejnou stimulaci zjistili Grafenau et al. (1988) po aplikaci Folicotropinu a FSH-BURNS, Biotec, a Pícha et al. (1988) po aplikaci Folicotropinu. Vyšší hodnoty výsledků, avšak u nižšího počtu dárkyň, uvádí Holý (1988).

Podíl získaných vajíček z počtu CL (69 % a 79,2 %, resp. 75,2 %) byl vyšší nebo srovnatelný s výsledky dříve získanými (Říha et al., 1988 – 56,6 %; Říha, 1990) a rovněž s údaji udávanými v literatuře: Kudláč et al. (1979) získali nechirurgicky 52,7 %, Betteridge (1977) 73,3 % vajíček z počtu CL; Grafenau et al. (1988), Pícha et al. (1988) a Holý (1988) uvádějí podíl získaných vajíček podle skupin 68,8 % a 80 %. Holý et al. (1987) a Holý (1988) udávají po použití Folicotropinu zisk nejvyšší – 12,7 vajíček, což představuje 119,8 % z počtu CL, a po použití FSH BURNS, Biotec, 13,8 vajíček (118,5 %). V naší práci (Říha et al., 1988) pojednávanější o superovulační účinnosti preparátu FSH – Folistiman jsme získali 13,59 vajíček, což je 96,2 % z počtu žlutých tělísek.

Nejlepší kvality získaných embryí bylo dosaženo u dárkyň ošetřených od 60 do 100 dnů po otelení, přičemž u zvířat ošetřených do 60 dnů byla poněkud nižší stimulace, zisk a kvalita embryí. Jak uvádí Holý (1988), je právě u těchto zvířat nejsnazší a nejrychlejší návrat do reprodukce po nechirurgickém odběru embryí. Callesen et al. (1996) uvádějí bezproblémový návrat zvířat do další reprodukce. Nejlepších výsledků ve stimulaci, zisku a kvalitě embryí bylo dosaženo u dárkyň inseminovaných v superovulační říji v intervalu 61 až 150 dní po otelení.

Vcelku příznivé výsledky superovulace a kvality embryí jsme získali i u zvířat ošetřených po 151. dnu po otelení. Naše zjištění je v souladu s poznatky autorů Limonov (1980), Hahn (1980), Říha (1982), Říha et al. (1988) a Holý (1988), že krávy v produkci je možné doporučit k použití kolem 70. až 90. dne *post partum* a v některých případech i před 60. dnem po otelení, dárkyň vyřazené z chovu, popř. permanentní dárkyň do asi jednoho roku po otelení, zatímco superovulace jalovic je méně úspěšná. Dobrých výsledků zisku i kvality embryí bylo dosahováno v rozmezí 60 až 100 dnů po otelení, což svědčí ve velké míře o zvládnutí chovatelských podmínek v tomto období vysoké laktace a s tím spojené metabolické zátěže. Dárkyň musí produkovat kvalitní embrya právě v tomto období, jak uvádějí Boland et al. (1990), Callesen et al. (1996), Britt (1992), Kruij et al. (1995). Výsledky získané v této práci odpovídají i námi dříve zjištěným výsledkům (Říha et al., 1989; Říha, 1990).

Nejvyšší stimulace a zisk a nejlepší kvalita embryí byly zjištěny u dárkyň plemene české strakaté a jeho kříženců s plemenem ayrshire. U dojnic plemene české strakaté x červené holštýnsko-fríské, popř. holštýnsko-fríské byly tyto ukazatele neprůkazně horší ($P > 0,05$; tab. II). Tendence lepší reakce na podaný gonadotropin

II. Vliv délky poporodního období na získání kvalitu embryí – The effect of postpartal period on embryo recovery and quality

Ukazatel ¹	n	Počet ¹⁰		
		CL	vajíček celkem* ¹¹	z toho vhodných embryí k přenosu ¹²
Sřední hodnota ²	1 380	12,501	8,831	5,885
Směrodatná odchylka ³		11,751	10,080	8,445
Variační koeficient ⁴ (%)		94,0	114,1	143,5
Délka poporodního období (intervalu od otelení do superovulační říje) ⁵				
0 – jalovice ⁶	62	1,93	-2,98	-2,92
Do 60 dnů ⁷	159	-1,66	-1,20	-1,03
61–80 dnů	285	0,71	0,53	0,02
81–100 dnů	253	0,63	0,81	1,14
101–150 dnů	267	0,18	1,24	1,17
151–200 dnů	110	-1,05	0,93	0,81
201 a více dnů	244	-0,39	0,77	0,85
Plemenná příslušnost ⁸				
Nejasný původ ⁹	4	6,24	3,61	1,39
C	293	-1,26	-0,78	-0,27
C x A do 37,5 %	223	-0,90	-0,56	-0,16
C x A nad 38 %	156	-1,52	-1,06	-0,02
C x R	338	-1,18	-0,76	-0,55
C x N + H	366	-1,37	-0,45	-0,38

P > 0,05

* zahrnuje získaná vhodná embrya, degenerovaná embrya a neoplozené oocyty – including recovery of transferable embryos, degenerated embryos and unfertilized oocytes

C = české strakaté plemeno – Czech Pied breed

R = červené holštýnsko-fríské plemeno – Red Holstein-Friesian breed

N = holštýnsko-fríské plemeno kontinentálního typu – Holstein-Friesian breed of continental type

H = holštýnsko-fríské plemeno – Holstein-Friesian breed

A = ayrshirské plemeno – Ayrshire breed

¹characteristic, ²mean value, ³standard deviation, ⁴coefficient of variation, ⁵postpartal period (interval from calving to superovulation estrus), ⁶heifers, ⁷less than 60 days, ⁸breed, ⁹unclear origin, ¹⁰number, ¹¹of eggs in total, ¹²of them: transferable embryos

a lepší kvality embryí od dárkyň plemen kombinovaných než od dárkyň plemen mléčných byla popsána dříve (Říha, 1990 a autoři v této práci citovaní).

LITERATURA

BETTERIDGE, K. J.: Embryo transfer in farm animals. Canada Dept. of Agriculture. Monogr., 1977. 16 s.

BOLAND, M. P. – MURPHY, M. G. – ROCHE, J. F.: The use of ultrasound to monitor ovarian function in farm animals. AgBiotech News Inf., 2, 1990: 841–844.

BRITT, J. H.: Impacts of early postpartum metabolism on follicular development and fertility. Bov. Pract., 24, 1992: 39–43.

CALLESEN, H. – GREVE, T. – BAK, A.: Embryotechnology in dairy cattle breeding. In: LAURIA, A. – GANDOLFI, F. (eds.): Embryonic Development and Manipulation in Animal Production: Trends in Research and Applications. London and Chapel Hill, Portland Press 1992: 207–214.

CALLESEN, H. – LIBORIUSSEN, T. – GREVE, T.: Practical aspects of multiple ovulation-embryo transfer in cattle. Anim. Reprod. Sci., 42, 1996: 215–226.

CALLESEN, H. – LIBORIUSSEN, T. – BAK, A. – GREVE, T.: Realized reproductive efficiency in MOET nucleus breeding cattle herds. In: Proc. 1st Integr. Europ. Conf. Progress in Embryo Technology and Genetic Engineering in Cattle and Sheep Breeding, April 1994, Krakow, Poland, 1994: 97–102.

GRAFENAU, P. – PIVKO, J. – OVČINIKOV, A.: Superovulácia kráv Follicotropinom, Spofa inj. ad usem vet. a FSH-P. Biol. Chem. Vet., 3, 1988: 179–202.

HAHN, R.: Selekcční programy s transplantací zárodků Spolku pro inseminaci v Neustadt a.d. Aisch. In: Sbor. Ref. Konf. Reprodukce v chovu skotu, Hradec Králové, 30. 9.–1. 10. 1980: 51–65.

HALL, J. B. – SCHILLO, K. K. – FITZGERALD, B. P. – HILEMAN, S. M. – ESTIENNE, M. J. – BRADLEY, N. W. – BOLING, J. A.: Effects of bovine somatotropin and dietary energy on LH secretion, follicular growth and onset of puberty in beef heifers. J. Anim. Sci., 68, 1990: (Suppl. 1) 437 (Abstr.).

HARVEY, W. R.: User's guide for LSML 76. Ohio State Univ., Columbus, 1977.

HASLER, J. F. – McCAULEY, A. D. – LATHROP, W. F. – FOOTE, R. H.: Effect of donor-embryo-recipient interactions

- on pregnancy rate in a large-scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology*, 27, 1987: 139–166.
- HOLÝ, L.: Využití embryotransferu jako součásti řízení reprodukce u skotu. In: Sbor. Ref. Symp. Produkční systémy v chovu skotu, Slušovice, 15.–18. 9. 1988: 103–110.
- HOLÝ, L. – JIŘÍČEK, A. – ŽÁK, M. – MAXIAN, A.: Stimulation of superovulations and removal of embryos with regard to the subsequent conception and milk yield of donor cows. *Acta Vet. (Brno)*, 56, 1987: 99–113.
- CHRISTIE, W. B. – MCGUIRK, B. J. – STRAHIE, R. J. – MULLAN, J. S.: Practical experience with the implementation of a MOET breeding scheme with dairy cattle. *Ann. Zootech.*, 41, 1992: 347–352.
- KINDER, J. E. – DAY, M. L. – KITTOCK, R. J.: Endocrine regulation of puberty in cows and ewes. *J. Reprod. Fertil.*, 34, 1987: (Suppl.) 167–186.
- KRUIP, T. A. M. – van BEEK, H. – de WIT, A. – POSTMA, A.: Quality of bovine oocytes in dairy cows *post partum*: Consequences for embryo production *in vivo*. In: Proc. Assoc. Europ. Transfer Emb., Hannover, Germany, 1995: 113–119.
- KUDLÁČ, E. – KOZUMPLÍK, J. – VINKLER, A. – HRIVNÁK, J.: Superovulace a konzervativní získávání embryí u krav. *Veterinářství*, 29, 1979: 158–173.
- LAND, R. B. – HILL, W. G.: The possible use of superovulation and embryo transfer in cattle to increase response to selection. *Anim. Prod.*, 21, 1975: 1–12.
- LANGE, H.: Embryotransfer bei der OHG 1993/94. *Osnabrücker Schwartzbuntzucht*, 69, 1995: 37–38.
- LIMONOV, V.: Vysokoproduktivnyje korovy-donory zigot. *Životnovodstvo*, 7, 1980: 36–37.
- LOHUIS, M. M. – SMITH, C. – DEKKERS, J. C. M.: MOET results from a dispersed hybrid nucleus programme in dairy cattle. *Anim. Prod.*, 57, 1993: 369–378.
- MAJERČIAK, P.: Řízená reprodukce hospodářských zvířat. [Výzkumná zpráva.] Nitra, VÚZV 1981.
- MCGUIRK, B. J.: Experiences with a MOET breeding programme. In: Europ. Holstein Friesian Conf., Peebles, UK, 1995: 9.
- MORAN, C. – QUIRKE, J. F. – ROCHE, J. F.: Puberty in heifers: a review. *Anim. Reprod. Sci.*, 18, 1989: 167–182.
- NELSON, L. S. – NELSON, C. F.: Effect of oestrus detection and corpus luteum development on pregnancy rates in bovine embryo recipients. *Theriogenology*, 23, 1985: 212.
- NICHOLAS, F. W. – SMITH, C.: Increased rates genetic change in dairy cattle by embryo transfer and splitting. *Anim. Prod.*, 36, 1983: 341–353.
- PÍCHA, J. – ŠEVČÍK, B. – PÍCHOVÁ, P. – KARLACH, V. – OLŠA, T. – LIDICKÝ, J.: Hormonální profil krav po aplikaci substance P-FSH a Folicitropinu inj. Spofa. *Biol. Chem. Vet. (Praha)*, 24, 1988 (4): 293–305.
- REINDERS, J. M. C. – VINKE, J. – MARKVOORT, G. W. F. – OLDENIEL, J. H. M.: The efficiency of the MOET program on a donor station. In: Proc. Assoc. Europ. Transfer Emb., Lyon, France, 1994: 240 (Abstr.).
- ŘÍHA, J.: Využití vyřazených krav jako dárců embryí pro přenos. [Kandidátská disertace.] Rapotín, 1982. – Výzkumný ústav pro chov skotu.
- ŘÍHA, J.: Biologická hlediska přenosu embryí u skotu. [Doktorská disertace.] Rapotín, 1990. 228 s. – Výzkumný ústav pro chov skotu.
- ŘÍHA, J. – LANDA, V.: Hluboké zmrazování, uchovávání a morfologické hodnocení embryí skotu. [Závěrečná zpráva.] Rapotín, VÚCHS 1986.
- ŘÍHA, J. – FRYAUF, M. – KNEISEL, J.: Superovulační odpověď dárkyň skotu na aplikaci FSH-P (Folistiman ad us. vet.). *Živoč. Výr.*, 33, 1988: 127–132.
- ŘÍHA, J. – LANDA, V. – POLÁŠEK, M.: Zmrazování, uchovávání a přenos čerstvých, dělených a zmrazených embryí vysokoužitkových krav. [Závěrečná zpráva.] Rapotín, VÚCHS 1989.
- TREGASKES, L. D. – BROADBENT, P. J. – HUTCHINSON, J. S. M. – RODEN, J. A. – DOLMAN, D. F.: Attainment of puberty and response to superovulation in performance-tested Simmental heifers. *Anim. Sci.*, 63, 1996: 65–71.
- WIERZBOWSKI, S. – SMORAG, Z. – WIRZCHOS, E.: Transplantacja zarodkov u byda, obecny stav i mozliwosci metody. *Med. Wet.*, 24, 1978: 321–327.

Došlo 15. 1. 1997

Kontaktní adresa:

Doc. Ing. Jan Říha, DrSc., Výzkumný ústav pro chov skotu, s. r. o., Rapotín, 788 13 Vikýřovice, Česká republika, tel.: 0649/21 41 01, fax: 0649/21 57 02

Oznamujeme čtenářům a autorům našeho časopisu,

že v návaznosti na časopis *Scientia agriculturae bohemoslovaca*, který až do roku 1992 vycházel v Ústavu vědeckotechnických informací Praha, vydává od roku 1994

Česká zemědělská univerzita v Praze

časopis

SCIENTIA AGRICULTURAE BOHEMICA

Časopis si zachovává původní koncepci reprezentace naší vědy (zemědělství, lesnictví, potravinářství) v zahraničí a jeho obsahem jsou původní vědecké práce uveřejňované v angličtině s rozšířenými souhrny v češtině.

Časopis je otevřen nejširší vědecké veřejnosti a redakční rada nabízí možnost publikace pracovníkům vysokých škol, výzkumných ústavů a dalších institucí vědecké základny.

Příspěvky do časopisu (v angličtině, popř. v češtině či slovenštině) posílejte na adresu:

Česká zemědělská univerzita v Praze
Redakce časopisu *Scientia agriculturae bohemica*
165 21 Praha 6-Suchdol

APLIKÁCIA *LACTOBACILLUS CASEI* TELATÁM S ROZVINUTOU ČREVNOU MIKROFLÓROU

ADMINISTRATION OF *LACTOBACILLUS CASEI* TO CALVES WITH WELL-ESTABLISHED GUT MICROFLORA

A. Bomba¹, S. Gancarčíková¹, R. Nemcová¹, R. Herich¹, M. Čížek², B. Kapitančík²

¹Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

²University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

ABSTRACT: The effect of continuous administration of *Lactobacillus casei* 294/89 on selected parameters of metabolic profile, gut ecosystem, growth, and health in calves on the average 8 week old with a well-established gut microflora has been studied. Throughout 4 weeks, *Lactobacillus casei* was daily administered to experimental calves at 2 g per os. 1 g of inoculum contained 1×10^8 of *L. casei* germs. In experimental (group P) and control (group K) animals, the average daily weight gains were 0.762 kg and 0.619 kg, respectively, throughout the period of observation. In experimental calves, significantly higher ($P < 0.05$) total protein (TP) and urea (U) serum levels (Fig. 1) were observed as early as two weeks after *L. casei* administration (group P: TP 69.74 ± 5.62 g.l⁻¹; U 3.76 ± 0.63 mmol.l⁻¹, group K: TP 60.39 ± 7.35 g.l⁻¹; U 3.01 ± 0.65 mmol.l⁻¹). No significant differences in the selected parameter levels of energetic profile between the two groups were observed; cholesterol being mostly influenced. On week 1 of the experiment, serum cholesterol levels in experimental calves were the lowest (4.35 ± 5.39 mmol.l⁻¹), those in control animals were the highest (9.45 ± 4.33 mmol.l⁻¹) for the whole period of observation (Fig. 2). At the end of the experiment, following the four-week *L. casei* administration, significantly higher ($P < 0.01$) *Lactobacillus* spp. counts were seen in experimental calves (group P: 6.32 ± 0.44 log 10 ml⁻¹; group K: 5.33 ± 0.47 log 10 ml⁻¹), *E. coli* (group P: 5.60 ± 0.69 log 10 ml⁻¹; group K: 4.40 ± 0.37 log 10 ml⁻¹). The total numbers of aerobic micro-organisms in faeces were as follows: group P: 6.30 ± 0.52 log 10 ml⁻¹; group K: 5.37 ± 0.47 log 10 ml⁻¹ (Fig. 3). The continuous *Lactobacillus casei* administration to calves with well-established gut microflora throughout 4 weeks positively influenced the growth of animals, the nitrogen profile, and the gut ecosystem.

calves; *Lactobacillus casei*; metabolic profile; gut microflora

ABSTRAKT: Bol sledovaný vplyv kontinuálnej aplikácie *Lactobacillus casei* (294/89) na vybrané ukazovatele metabolického profilu, črevný ekosystém, rast a zdravie teliat s rozvinutou črevnou mikroflórou v priemernom veku 8 týždňov. *Lactobacillus casei* bol v pokusnej skupine teliat aplikovaný denne v lyofilizovanej forme v dávke 2 g, per os po dobu 4 týždňov. 1 g inokula obsahoval 1×10^8 zárodkov *L. casei*. Priemerné denné prírastky za celé sledované obdobie boli u teliat pokusnej skupiny (skupina P) 0,762 kg, u teliat kontrolnej skupiny (skupina K) 0,619 kg. U teliat pokusnej skupiny boli zaznamenané signifikantne vyššie ($P < 0,05$) hladiny celkových bielkovín (CB) a močoviny (U) v sére už po dvoch týždňoch aplikácie *L. casei* (skupina P: CB $69,74 \pm 5,62$ g.l⁻¹, U $3,76 \pm 0,36$ mmol.l⁻¹; skupina K: CB $60,39 \pm 7,35$ g.l⁻¹, U $3,01 \pm 0,65$ mmol.l⁻¹). Rozdiely hladín vybraných parametrov energetického profilu medzi sledovanými skupinami neboli signifikantné, pričom najviac bol ovplyvnený cholesterol. Koncentrácia cholesterolu v sére dosiahla 1. týždeň experimentu u teliat pokusnej skupiny najnižších ($4,35 \pm 5,39$ mmol.l⁻¹) a u teliat kontrolnej skupiny najvyšších hodnôt ($9,45 \pm 4,33$ mmol.l⁻¹) za celé sledované obdobie. U teliat pokusnej skupiny boli na konci experimentu, po štvortýždňovej aplikácii *Lactobacillus casei*, zaznamenané signifikantne vyššie ($P < 0,01$) počty *Lactobacillus* spp. (skupina P $6,32 \pm 0,44$ log 10 ml⁻¹, skupina K $5,33 \pm 0,47$ log 10 ml⁻¹), *E. coli* (skupina P $5,60 \pm 0,69$ log 10 ml⁻¹, skupina K $4,40 \pm 0,37$ log 10 ml⁻¹) a celkové počty aeróbných mikroorganizmov v truse (skupina P $6,30 \pm 0,52$ log 10 ml⁻¹, skupina K $5,37 \pm 0,47$ log 10 ml⁻¹). Kontinuálna aplikácia *Lactobacillus casei* telatám s rozvinutou črevnou mikroflórou po dobu 4 týždňov mala pozitívny vplyv na rast zvierat, dusíkový profil a črevný ekosystém.

telatá; *Lactobacillus casei*; metabolický profil; črevná mikroflóra

ÚVOD

Probiotiká nachádzajú v súčasnosti široké aplikačné možnosti. Na makroorganizmus majú veľmi priaznivý

biologický efekt, ktorý nie je spojený so žiadnymi vedľajšími účinkami ani rizikami pre životné prostredie. Tieto skutočnosti vytvárajú predpoklady pre využívanie probiotík vo väčšej miere ako doposiaľ. Lee

a Salminen (1995) dokonca predpovedajú príchod veku probiotik.

Probiotiká sa využívajú v poľnohospodárstve, potravinárskom priemysle a medicíne. Uplatňujú sa vo výžive hospodárskych zvierat za účelom zlepšenia konverzie živín krmiva a zvýšenia hmotnostných prírastkov (Burgstaller et al., 1984; Svozil et al., 1987) a pri riadenom ovplyvňovaní funkčného vývoja tráviaceho traktu mláďat (Wallace, Newbold, 1992; Štyriak et al., 1994), využívajú sa ako štartovacie kultúry v potravinárskych výrobkoch (Kivanc, 1990) a v prevencii a terapii ochorení ľudí (Gottz et al., 1979) a hospodárskych zvierat (Watkins et al., 1982). Z hľadiska využitia probiotík v humánnej a veterinárnej medicíne a vo výžive hospodárskych zvierat je veľmi významný ich biomedicínsky účinok, ktorý spočíva v inhibičnom efekte voči patogénom, optimalizačnom vplyve na tráviace procesy, stimulačnom účinku na imunitný systém a antitumorovej a anticholesterolevej aktivite.

Použitie probiotík je efektívnejšie u zvierat s vyvíjajúcou sa mikroflórou, alebo po narušení jej stability (Stavric, Kornegay, 1995), čo naznačuje, že probiotiká sú určené predovšetkým pre mláďatá v ranom veku. K narušeniu rovnováhy ekosystému tráviaceho traktu môže dôjsť aj u hospodárskych zvierat starších vekových kategórií (napr. zmena krmiva, odstav, terapia antibiotikami), alebo je potrebné podporiť imunitný systém (ochorenia, stres).

V našich predchádzajúcich experimentoch bolo zistené, že kmeň *Lactobacillus casei* 294/89 bol veľmi efektívny v prevencii hnačkových ochorení v prvých dňoch života a vykazoval imunostimulačný efekt. Cieľom tejto práce bolo študovať vplyv kontinuálnej aplikácie *Lactobacillus casei* na vybrané ukazovatele metabolického profilu, črevný ekosystém, rast a zdravie teliat s rozvinutou črevnou mikroflórou.

MATERIÁL A METÓDA

Do experimentu bolo zaradených 16 teliat, kríženec slovenského strakatého a nížinného čiernostrakatého dobytky, v priemernom veku 8 týždňov. Zvieratá boli rozdelené do dvoch skupín po 8 jedincov. Tefatá boli napájané mliečnou krmnou zmesou Sprayfo blau (Sloten, Holandsko) v dávke 6 l na tefa a deň. Napájalo sa dvakrát denne. Zloženie Sprayfo blau bolo: dusíkaté látky 19,5 %, tuk 15,0 %, popoloviny 10,0 %, vláknina 0,1 %, laktóza 48,0 %, metabolizovateľná energia 17,02 MJ/kg. Krmnu zmes TKŠ a seno prijímali tefatá *ad libitum*. Krmna zmes TKŠ mala nasledovný obsah živín: sušina 84,0%, vláknina 5,9 %, škrobové látky 16,74 %, stráviteľné dusíkaté látky 14,3 %, škrobové jednotky 0,67, koncentrácia energie (KE) 0,797, dusíkato-energetický koeficient (NEK) 213,4. Tefatá mali voľný prístup k vode. Pokusnej skupine teliat (skupina P) bol denne aplikovaný *Lactobacillus casei* v lyofilizovanej forme v dávke 2 g, *per os* po dobu štyroch

týždňov, 1 g inokula obsahoval 1×10^8 zárodokov *Lactobacillus casei* 294/89. Kmeň *Lactobacillus casei* bol izolovaný z rektálneho výteru dvojdňového teľaťa. Kontrolná skupina teliat (skupina K) nedostala žiadne inokulum. Vzorky krvi boli odoberané z *v. jugularis* od tých istých teliat v týždňových intervaloch. Hematokrit, hemoglobín, erytrocyty, leukocyty a diferenciálny krvný obraz boli stanovené bežnými hematologickými metódami. Celkové bielkoviny, močovina, glukóza, celkové lipidy a cholesterol v sére boli stanovené Bio-La-testami (Lachema, Brno). Na stanovenie počtu laktobacilov pri anaeróbnej kultivácii bol použitý selektívny Rogosa agar, pri aeróbnej kultivácii bol na stanovenie počtu *E. coli* použitý McConkey agar a na stanovenie celkového počtu aeróbných mikroorganizmov krvný agar. Na štatistické vyhodnotenie bola použitá analýza variancie.

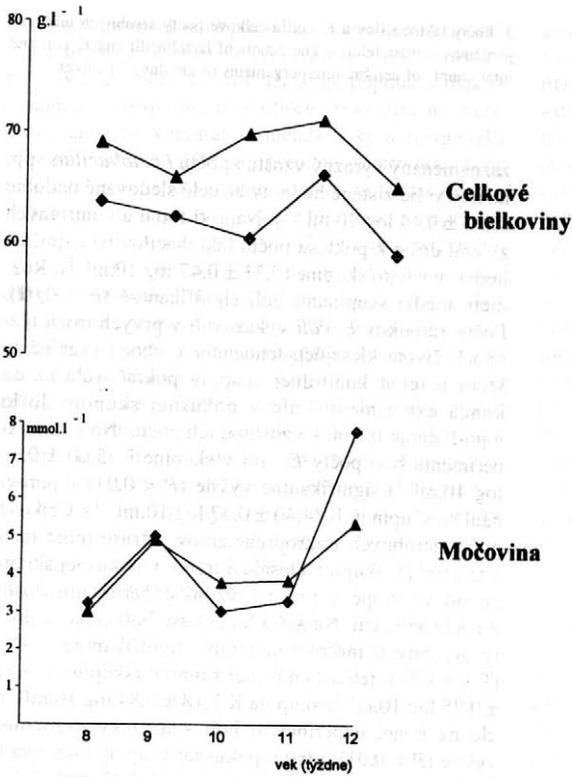
VÝSLEDKY

Priemerné denné prírastky za celé sledované obdobie boli u teliat pokusnej skupiny (skupina P) 0,762 kg, u teliat kontrolnej skupiny (skupina K) 0,619 kg. V oboch skupinách došlo k ochoreniu jedného zvieratá (bronchopneumónia), ale úhyn nebol zaznamenaný.

Hladina celkových bielkovín v sére teliat dosahovala vyšších hodnôt u teliat pokusnej skupiny v priebehu celého sledovaného obdobia, so signifikantným rozdielom ($P < 0,05$) v druhom (skupina P $69,74 \pm 5,62 \text{ g.l}^{-1}$, skupina K $60,39 \pm 7,35 \text{ g.l}^{-1}$) a tretom týždni experimentu (skupina P $71,02 \pm 2,83 \text{ g.l}^{-1}$ a skupina K $66,12 \pm 3,21 \text{ g.l}^{-1}$). Signifikantne vyššia koncentrácia močoviny ($P < 0,05$) v sére teliat pokusnej skupiny ($3,76 \pm 0,36 \text{ mmol.l}^{-1}$) v porovnaní s kontrolnou skupinou ($3,01 \pm 0,65 \text{ mmol.l}^{-1}$) bola zaznamenaná po dvoch týždňoch aplikácie *Lactobacillus casei* (obr. 1).

Najvyššia hladina glukózy v sére pokusných ($3,46 \pm 0,19 \text{ mmol.l}^{-1}$) i kontrolných teliat ($3,36 \pm 0,31 \text{ mmol.l}^{-1}$) bola zistená na konci štvortýždňového experimentu, pričom rozdiely medzi sledovanými skupinami neboli signifikantné. Aj rozdiely koncentrácie celkových lipidov v sére teliat neboli štatisticky významné a najvyšších hodnôt v oboch skupinách dosiahli v 2. týždni experimentu (skupina P $4,32 \pm 0,46 \text{ g.l}^{-1}$, skupina K $4,63 \pm 1,23 \text{ g.l}^{-1}$). Najväčšie rozdiely hladín cholesterolu v sére sledovaných teliat boli zaznamenané po týždňovej aplikácii *Lactobacillus casei*, kedy koncentrácia cholesterolu dosiahla u teliat pokusnej skupiny najnižších ($4,35 \pm 5,39 \text{ mmol.l}^{-1}$) a u teliat kontrolnej skupiny najvyšších hodnôt ($9,45 \pm 4,33 \text{ mmol.l}^{-1}$) za celé sledované obdobie. Rozdiely medzi sledovanými skupinami neboli signifikantné (obr. 2).

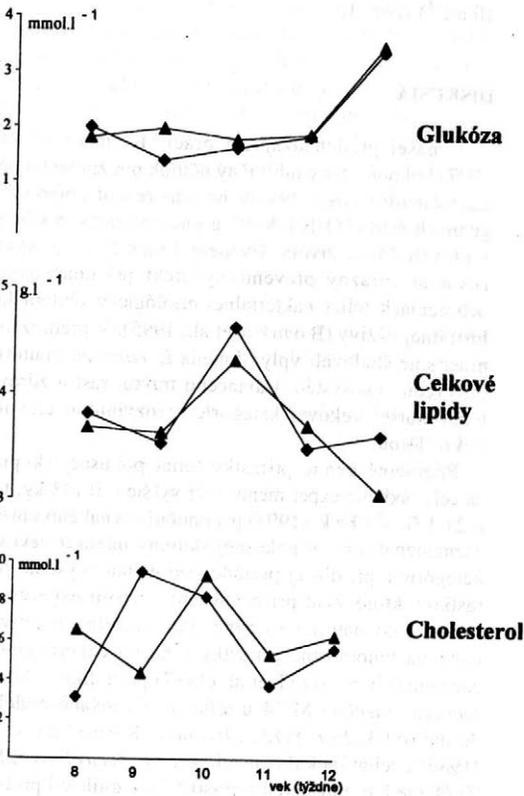
Počty *Lactobacillus* spp. v truse vykazovali v prvých troch týždňoch experimentu rovnakú dynamiku v oboch sledovaných skupinách teliat. Pokles počtu laktobacilov v 1. týždni pokusu vystriedal ich vzostup v 2. týždni s nasledovným miernym poklesom. V poslednom týždni experimentu bol v pokusnej skupine



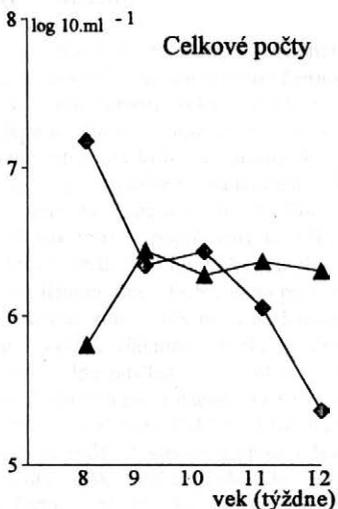
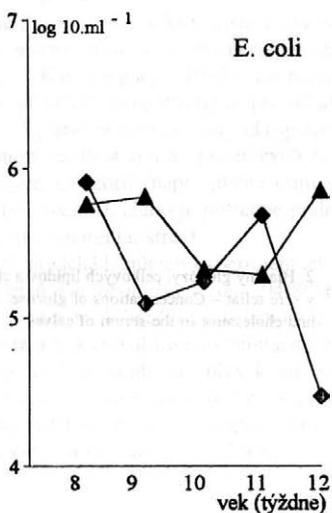
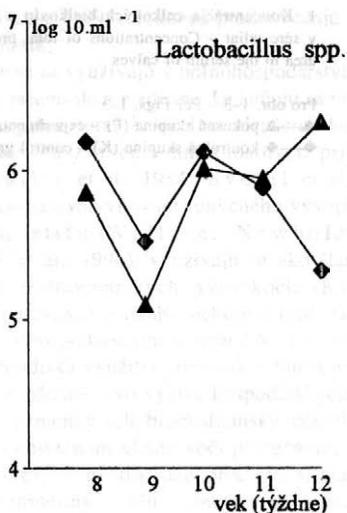
1. Koncentrácia celkových bielkovín a močoviny v sére teliat – Concentrations of total proteins and urea in the serum of calves

Pro obr. 1-3 – For Figs. 1-3:

▲▲ pokusná skupina (P) – experimental group
◆◆ kontrolná skupina (K) – control group



2. Hladiny glukózy, celkových lipidov a cholesterolu v sére teliat – Concentrations of glucose, total lipids and cholesterol in the serum of calves



3. Počty laktobacilov a *E. coli* a celkové počty aeróbných mikroorganizmov v truse teliat – The counts of lactobacilli and *E. coli* and total counts of aerobic microorganisms in the dung of calves

zaznamenaný výrazný vzostup počtu *Lactobacillus* spp. na najvyššie zistené hodnoty za celé sledované obdobie ($6,32 \pm 0,44 \log 10.\text{ml}^{-1}$). Naproti tomu u kontrolných zvierat došlo k poklesu počtu laktobacilov na najnižšie hodnoty v tejto skupine ($5,33 \pm 0,47 \log 10.\text{ml}^{-1}$). Rozdiely medzi skupinami boli významné ($P < 0,01$). Počty zárodkov *E. coli* vykazovali v prvých troch týždňoch života klesajúcu tendenciu v oboch skupinách, ktorá u teliat kontrolnej skupiny pokračovala až do konca experimentu, ale v pokusnej skupine došlo v poslednom týždni k vzostupu ich počtu. Na konci experimentu boli počty *E. coli* v skupine P ($5,60 \pm 0,69 \log 10.\text{ml}^{-1}$) významne vyššie ($P < 0,01$) v porovnaní so skupinou K ($4,40 \pm 0,37 \log 10.\text{ml}^{-1}$). Celkové počty aeróbných mikroorganizmov v truse teliat mali v kontrolnej skupine klesajúci trend, v pokusnej skupine po vzostupe v prvom týždni experimentu došlo k ich stabilizácii. Na začiatku pokusu boli celkové počty aeróbných mikroorganizmov významne vyššie ($P < 0,05$) u teliat kontrolnej skupiny (skupina P $5,81 \pm 0,75 \log 10.\text{ml}^{-1}$, skupina K $7,18 \pm 0,84 \log 10.\text{ml}^{-1}$), ale na konci experimentu boli štatisticky významne vyššie ($P < 0,01$) u teliat pokusnej skupiny (skupina P $6,30 \pm 0,52 \log 10.\text{ml}^{-1}$, skupina K $5,37 \pm 0,47 \log 10.\text{ml}^{-1}$) (obr. 3).

DISKUSIA

V našej predchádzajúcej práci (Bomba et al., 1997) bol potvrdený inhibičný účinok použitého kmeňa *Lactobacillus casei* 294/89 na adhérenciu enterotoxigénnych *E. coli* O 101 K99⁺ u gnotobiotických jahniat v prvých dňoch života. Uvedený kmeň *L. casei* vykazoval aj výrazný preventívny efekt pri hnačkových ochoreniach teliat bakteriálnej etiológie v období kostrálnej výživy (Bomba et al., 1995). V predloženej práci sme študovali vplyv kmeňa *L. casei* na vnútorné prostredie, ekosystém tráviaceho traktu, rast a zdravie teliat staršej vekovej kategórie s rozvinutou črevnou mikroflórou.

Priemerné denné prírastky teliat pokusnej skupiny za celé obdobie experimentu boli vyššie o 0,143 kg, t. j. o 21,3 %. Čížek (1993) pri použití rovnakého kmeňa zaznamenal u teliat pokusnej skupiny mladšej vekovej kategórie a pri dlhšej perióde sledovania zvýšenie prírastkov, ktoré však pri porovnaní s našim experimentom nebolo natoľko výrazné. Porovnateľný pozitívny efekt na hmotnostné prírastky s našim experimentom zaznamenali Svovizil et al. (1987) pri aplikácii *Streptococcus faecium* M-74 u teliat za sledované obdobie 30 dní (od 3. do 8. týždňa života) a Kopečný et al. (1989) u teliat inokulovaných *Streptococcus bovis* ES1. Zvýšenie hmotnostných prírastkov po aplikácii probio-

tík možno pripísať ich optimalizačnému účinku na tráviace procesy. Pozitívny efekt probiotík na tráviace procesy je sprostredkovaný nárastom populácie makroorganizmu prospešnej mikroflóry, zvýšením jej enzymovej aktivity, vytváraním metabolicky a energeticky výhodnejších ciest látkovej premeny a enzymatického rozkladu črevného obsahu, zvýšením stráviteľnosti a využiteľnosti krmiva. Zvýšenie hmotnostných prírastkov a využiteľnosti krmiva a nižšiu spotrebu škrobových jednotiek na 1 kg prírastku po aplikácii laktobacilov zaznamenali Burgstaller et al. (1984) u teliat a Nousiainen, Setälä (1993) u odstavčiat.

Pri posudzovaní sledovaných parametrov metabolického profilu možno konštatovať, že aplikácia *Lactobacillus casei* významne ovplyvnila dusíkový profil, zatiaľ čo rozdiely vybraných ukazovateľov energetického profilu medzi sledovanými skupinami boli nepodstatné. Signifikantne vyššie hladiny celkových bielkovín v sére teliat pokusnej skupiny možno vysvetliť zvýšením stráviteľnosti a lepším využitím bielkovín kŕmnej dávky. Teplý (1984) uvádza, že proteolytickým účinkom laktobacilov dochádza v tráviacom trakte mláďat prežúvavcov k natráveniu bielkovín mlieka, čím sa zvýši ich stráviteľnosť a resorpcia.

Zistené rozdiely hladín glukózy, celkových lipidov a cholesterolu v sére teliat pokusnej a kontrolnej skupiny neboli významné. Gilliland et al. (1985) zistili, že podávanie laktobacilov ošipánym, ktorým bol skrmovaný cholesterol, významne redukovalo hladinu cholesterolu v ich sére, podobne ako podávanie fermentovaného mlieka v porovnaní s neošetreným mliekom (Grunewald, 1982). Predpokladá sa, že niektoré kmene laktobacilov inhibujú syntézu cholesterolu (Mann, 1977) alebo znižujú hladinu cholesterolu priamo asimiláciou (Zacconi et al., 1992). V našom experimente sa anticholesterolový efekt prejavil len v prvom týždni aplikácie *Lactobacillus casei*.

Aplikácia *L. casei* sa u pokusných teliat na konci experimentu prejavila významne vyššími počtami populácie laktobacilov za súčasného významného zvýšenia počtu *E. coli* a celkového počtu aeróbnych mikroorganizmov. Niektorí autori uvádzajú, že aplikácia laktobacilov potláča populáciu *E. coli* (Mitchell, Kenworthy, 1976; Muralidhara et al., 1977). Skutočnosť, že aplikácia *Lactobacillus casei* v našom experimente nemala za následok zníženie počtu *E. coli*, možno vysvetliť, v súlade s poznatkami autorov De Cupere et al. (1992), vyšším vekom zvierat, u ktorých je črevná mikroflóra stabilizovaná.

Na základe dosiahnutých výsledkov možno konštatovať, že kontinuálna aplikácia *Lactobacillus casei* 294/89 pozitívne ovplyvnila rast, vybrané ukazovatele dusíkového profilu a črevnú mikroflóru teliat.

LITERATÚRA

BOMBA, A. – NEMCOVÁ, R. – HERICH, R. – PATAKY, J. – ČÍZEK, M. – KAPITANČÍK, B.: Nové preventívne

a podporné prípravky pre mláďatá. Náš Chov (Praha), 55, 1995: 18.

BOMBA, A. – KRAVJANSKÝ, I. – KAŠTEL, R. – HERICH, R. – JUHÁSOVÁ, Z. – ČÍZEK, M. – KAPITANČÍK, B.: Inhibitory effects of *Lactobacillus casei* upon adhesion of enterotoxigenic *Escherichia coli* K 99 to the intestinal mucosa in gnotobiotic lambs. Small Rum. Res., 23, 1997: 199–209.

BURGSTALLER, G. – FERSTL, R. – ALPS, H.: Zum Zusatz von Milchsäurebakterien (*Streptococcus faecium* SF-68) in Milchaustauschfuttermittel für Mastkälber. Züchtungskunde, 56, 1984: 156–162.

ČÍZEK, M.: Vplyv probiotík na tráviaci trakt hovädzieho dobytky. [Kandidátska dizertačná práca.] Košice, 1993. – Univerzita veterinárskeho lekárstva.

DE CUPERE, F. – DEPREEZ, P. – DEMEULENAERE, D. – MUYLLE, E.: Evaluation of the effect of 3 probiotics on experimental *Escherichia coli* enterotoxaemia in weaned piglets. J. Vet. Med. B, 39, 1992: 277–284.

GILLILAND, S. E. – NELSON, C. R. – MAXWELL, C.: Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. Appl. Environ. Microbiol., 49, 1985: 377–381.

GOTZ, V. – ROMANKIEWICZ, J. A. – MOSS, J. – MURRAY, H. W.: Prophylaxis against ampicillin-associated diarrhea with a lactobacillus preparation. Amer. J. Hosp. Pharmacol., 36, 1979: 754.

GRUNEWALD, K. K.: Serum cholesterol levels in rats fed skim milk fermented by *Lactobacillus acidophilus*. J. Food Sci., 47, 1982: 2078–2079.

KIVANC, M.: Antagonistic lactic cultures toward spoilage and pathogenic microorganisms in food. Nahrung, 34, 1990: 273–277.

KOPEČNÝ, J. – ŠIMUNEK, J. – KALAČNÍK, G. I. – SAVKA, O. G. – GERASIMIV, M. G. – LESKOVIČ, B.: Testování probiotického působení vybraných bacherových bakterií. Živoč. Vyr., 34, 1989: 205–213.

LEE, Z. – SALMINEN, S.: The coming of age of probiotic. Trends in Food Sci. Technol., 6, 1995: 241–244.

MANN, G. V.: A factor of yoghurt which lowers cholesterolaemia in man. Atherosclerosis, 26, 1977: 335–340.

MITCHELL, I. De G. – KENWORTHY, R.: Investigations on a metabolite form *Lactobacillus bulgaricus* which neutralizes the effect of enterotoxin from *Escherichia coli* pathogenic for pigs. J. Appl. Bacteriol., 41, 1976: 163–174.

MURALIDHARA, K. S. – SHEGGEY, G. G. – ELLIKER, P. R. – ENGLAND, D. C. – SANDINE, W. E.: Effect of feeding lactobacilli on the coliform and lactobacillus flora of intestinal tissue and feces from piglets. J. Food. Prot., 40, 1977: 288–295.

NOUSIAINEN, J. – SETÄLÄ, J.: Lactic acid bacteria as animal probiotics. In: SALMINEN, S. – VON WRIGHT, A. (eds.): Lactic Acid Bacteria. New York, USA, Marcel Dekker 1993: 315–356.

STAVRIC, S. – KORNEGAY, E. T.: Microbial probiotic for pigs and poultry. In: WALLACE, R. J. – CHESSON, A. (eds.): Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding. Weinheim, Germany, VCH Verlagsgesellschaft mbH 1995: 205–231.

SVOZIL, B. – DANĚK, P. – KUMPRECHT, I. – ZOBÁČ, P.: Účinnost odstupňovaných hladin bakterií *Streptococcus*

faecium M-74 ve výživě telat. Živoč. Vyr., 32, 1987: 265–271.

ŠTYRIAK, I. – GÁLFI, P. – KMEŤ, V.: The adherence of three *Streptococcus bovis* strains to cells of rumen epithelium primoculture under various conditions. Arch. Anim. Nutr., 46, 1994: 357–365.

TEPLÝ, M.: Čisté mlékařské kultury. Praha, SNTL 1984.

WALLACE, R. J. – NEWBOLD, C. J.: Probiotics for ruminants. In: FULLER, R. (ed.): Probiotics the Scientific Basis. London, Chapman and Hall 1992: 317–353.

WATKINS, B. A. – MILLER, B. F. – NEIL, D. H.: *In vivo* inhibitory effects of *Lactobacillus acidophilus* against pathogenic *Escherichia coli* in gnotobiotics chicks. Poul. Sci., 61, 1982: 1298–1308.

ZACCONI, C. – BOTTAZZI, V. – REBECCHI, A. – BOSI, E. – SARRA, P. G. – TAGLIAFERI, L.: Serum cholesterol levels in axenic mice colonized with *Enterococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*. Microbiologica, 15, 1992: 413–418.

Došlo 27. 11. 1996

Kontaktná adresa:

MVDr. Alojz Bomba, CSc., Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Hlinkova 1/A, 040 01 Košice, Slovenská republika, tel.: 095/633 74 29, fax: 095/633 18 53

RELATIONSHIPS BETWEEN HAEMATOLOGICAL AND REPRODUCTIVE INDICES IN BREEDER COCKS

VZTAHY MEZI HEMATOLOGICKÝMI A REPRODUKČNÍMI UKAZATELI U PLEMENNÝCH KOHOUTŮ

P. Suchý, E. Straková, J. Illek

University of Veterinary Science and Pharmaceutics, Brno, Czech Republic

ABSTRACT: The paper outlines characteristic changes in blood count of breeder cocks occurring during the course of sexual maturation. A significant increase was observed in total erythrocyte counts, haemoglobin and haematocrit value. The conclusions of the study assessing the growth of cocks suggested that the growth rate was highest between 18 and 20 weeks of age. Part of the study was an investigation into gonad development. The growth rate in gonad development in cocks reached its maximum from 15 to 20 weeks of age. Of significance were also the results of the correlation analysis revealing a close relationship between gonad development, haematocrit value and haemoglobin during the sexual maturation of cocks. Similarly, in breeder cocks used for reproduction significant relationships were obtained between cocks exhibiting high or low haemoglobin levels in erythrocyte counts related to sperm concentrations in ejaculates.

breeding cocks; hematological parameters; gonad development; reproductive indices

ABSTRAKT: Výsledky práce potvrzují, že u plemenných kohoutů existují vztahy mezi některými hematologickými ukazateli (obsah hemoglobinu, hematokritová hodnota a celkový počet erytrocytů), rozvojem gonád v období pohlavního dospívání a koncentrací spermií v ejakulátu v období pohlavní dospělosti. K nejintenzivnějším vývojovým změnám gonád u kohoutů docházelo mezi 15. a 20. týdnem věku, kdy se vysoce průkazně zvyšovala ($P \leq 0,01$) hmotnost a velikost gonád. V tomto období se obdobně průkazně zvyšovala i hodnota hemoglobinu, celkový počet erytrocytů a hematokritová hodnota. Vztah mezi rozvojem gonád a sledovanými hematologickými ukazateli potvrdila i korelační analýza. Nejtěsnější vztah byl prokázán mezi hmotností gonád a hematokritovou hodnotou mezi 15. a 25. týdnem věku kohoutů. V 15. týdnu věku byl mezi hmotností pravé gonády a hematokritovou hodnotou prokázán korelační vztah daný korelačním koeficientem $r = +0,5140$, ve 20. týdnu $r = +0,6514$ a ve 25. týdnu $r = +0,7657$. Obdobně korelační vztahy byly zaznamenány i u levé gonády. Od 20. do 25. týdne věku kohoutů byly prokázány obdobně korelační vztahy mezi hmotností gonád a hemoglobinem. Obdobně vztahy hematologických ukazatelů k některým reprodukčním ukazatelům byly prokázány u plemenných kohoutů i v období pohlavní dospělosti. U plemenných kohoutů s vysokými hladinami hemoglobinu a erytrocytů byly zjištěny i statisticky vysoce průkazně vyšší ($P \leq 0,01$) koncentrace spermií v ejakulátu.

plemenní kohouti; hematologické ukazatele; vývoj gonád; reprodukční ukazatele

INTRODUCTION

This paper is the product of a synthesis of extensive studies of relationships between some physiological and reproductive indices carried out with the aim to assess whether haematological indices may be used as predictors of gonad development in cocks *intra vitam* and possibly to determine the potential capacity of cocks to produce high quality ejaculates.

In literature there have been only few comprehensive studies available on this problem. The decision to deal with this problem has been provoked by the fact that research attention has so far been devoted only to some special aspects of the problem and that the conclusions reported have been rather inconsistent.

The study is a continuation of a series of earlier studies published by Suchý et al. (1988, 1989). The changes in the blood count of chicks have also been reported by Jantošovič (1967). This problem but in other fowls has been investigated by Straková et al. (1994), who conducted haematological and biochemical studies in the Japanese quail at rearing and hatching. The relationship between haematological and reproductive traits in ganders have been studied by Csuka et al. (1987). Perhaps the most significant conclusion has been drawn by Cecil and Bakst (1991), who reported changes in haematological indices in breeder turkeys during sexual maturation.

Interesting from the viewpoint of the study of spermiogenesis in breeder cocks seems to be the conclu-

sions of Machal et al. (1996). The authors examined some ejaculate indices in relation to the levels of total lipids and cholesterol in their blood plasma.

MATERIAL AND METHODS

The paper synthesizes results from previous studies of relationships between haematological and biochemical blood parameters in breeder cocks, gonad development and some ejaculate indices.

Only haematological indices related to gonad development or ejaculate quality are included.

Studies were made on breeder cocks during their sexual maturation and reproduction, i.e. from 10 to 35 weeks of age.

A total of fifty cocks of the inbred father lines of Rhode Island Red (RIR) were used. In the cocks 10, 15, 20, 25 and 30 weeks old the gonads were isolated for determination of gonad length, width, thickness and weight and for haematological analysis.

Simultaneously, blood samples were collected from a group of 24 cocks 10, 15, 20, 25, 30 and 35 weeks old. Blood was taken by puncture of the *vena basilica* and heparinized. In blood samples total erythrocyte count was determined by the method of diluting and by the counting of erythrocytes using the Bürker chamber. Haemoglobin content was estimated photometrically by means of a Specol-11 photometer using the Drabkin solution at a wavelength of 540 nm. Haematocrit value was determined as capillary haematocrit value according to the method of Janetzki. In a selected group of 24 cocks growth rate was studied by weighing at 10, 14, 16, 18, 20, 23, 25 and 30 weeks of age.

In a randomly chosen group of 148 breeder cocks 35 weeks old used for reproduction, ejaculate was collected by abdominal massage and ejaculate volume was determined. Sperm motility and concentration in ejaculate was evaluated microscopically by diluting and sperm counting was made by means of the Bürker chamber. Immediately after ejaculate collection haematological analysis was made.

Cock rearing was performed in a windowless house for young birds in cages with a concentration of 25 birds/m². At the time of study from week 10 to week

18 of age an 8-hour light period was provided. At week 19 the cocks were placed into an individual compartment of the layer house (2 cocks/cage) and ejaculate samples for insemination were taken. Now the lighting regime changed from 9-h light period at week 20 to 14-h light at week 30 and 15-h light at week 35 of age. The intensity of light was 30 lux in the rearing house and 40 lux in the layer house. Room temperature during rearing ranged from 15 to 18 °C and from 13 to 18 °C in the layer house. Relative humidity fluctuated between 65 and 75%. During rearing the cocks were given *ad libitum* access to a complete feed mixture for rearing KZK containing 150 g of protein, after transfer to the layer house to a complete feed mixture for layers NP with the content of 11.5 MJ.kg⁻¹ and 170 g of protein per kg of mixture and supplemented with 150 g of oats per kg of mixture given to breeder cocks.

RESULTS

The results revealed characteristic changes in blood count in breeder cocks during their sexual maturation. The changes were observed in haemoglobin content, total erythrocyte count and haematocrit value. In all the three haematological indices studied there was a marked increase in average values in cocks from 10 to 35 weeks of age. Haemoglobin content increased from 82.20 to 135.43 g.l⁻¹, total erythrocyte counts rose from 2.14 to 3.55 T.l⁻¹ and haematocrit value from 0.258 to 0.438 l.l⁻¹, as shown in Tab. I. The differences between average values for the indices studied were mostly statistically significant. The most significant changes in the blood count were recorded in cocks from 25 to 30 weeks of age. At this period a highly significant ($P \leq 0.01$) increase in average values for haemoglobin content, total erythrocyte count and haematocrit values occurred.

A selected group of cocks was also used to investigate gonad development during sexual maturation. Results summarized in Tab. II demonstrated that the intensive development of gonads in cocks occurred between 15 and 25 weeks of age. Both gonads developed simultaneously. This is supported by very high positive correlation coefficients between the develop-

I. Haemoglobin content (g.l⁻¹), total erythrocyte count (T.l⁻¹), haematocrit value (l.l⁻¹) in breeder cocks during sexual maturation

Week	n	Haemoglobin		Erythrocyte		Haematocrit	
		\bar{x}	s_{n-1}	\bar{x}	s_{n-1}	\bar{x}	s_{n-1}
10	24	82.20*	6.740	2.23	0.382	0.287	0.022
15	24	87.30*	9.162	2.14	0.265	0.284	0.022
20	24	92.19*	7.248	2.26	0.391	0.289	0.026
25	24	92.86	10.420	2.57*	0.469	0.258**	0.037
30	24	126.99**	11.710	3.53**	0.390	0.413**	0.032
35	24	135.43*	10.080	3.55	0.447	0.438*	0.031

* $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$

II. Changes in the size and the weight of the gonad in breeder cocks during sexual maturation

		Week	\bar{x}	s_{n-1}			\bar{x}	s_{n-1}
<i>Testes sinistra</i>	length	10	12.85	1.36	<i>testes dextra</i>	length	11.10	0.99
		15	12.90	1.29			112.10	1.49
		20	33.20**	9.24			31.40**	9.13
		25	46.75**	6.59			44.60**	5.19
	width	30	49.30	6.70		44.30	7.20	
		10	5.75	1.01		5.90	0.77	
		15	6.10	0.61		6.40	0.77	
		20	19.30**	6.00		19.50**	6.24	
	height	25	25.60*	4.30		26.75**	2.55	
		30	28.10	4.40		27.50	10.30	
		10	5.25	0.63		5.40	0.57	
		15	5.50*	0.41		5.40	0.74	
	weight	20	16.60**	4.99		16.90**	5.28	
		25	21.75*	2.86		22.40*	3.75	
		30	22.50	3.80		20.70	3.50	
		10	0.18	0.04		0.16	0.04	
	weight	15	0.21	0.05		0.17	0.05	
		20	6.38**	4.60		6.11**	4.36	
25		15.04*	5.91	13.90**	3.84			
30		16.38	4.75	13.38	3.72			

* $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$

ment of the right and the left gonad (Tab. III). The intensive development of gonads was recorded between 15 and 20 weeks of age. The dimensional and weight changes in the gonads were found to be highly significant ($P \leq 0.01$). From 25 weeks of age the size and weight of gonads changed only slightly.

The results of haematological studies and the results concerning gonad development were subjected to correlation analysis, as shown in Tab. III.

The correlation analysis revealed a close relationship between gonad development and haematocrit value from 15 weeks of age and the relationship between gonad development and haemoglobin from 20 weeks of age. These relationships were expressed by positive, medium-high to high correlation coefficients. Tab. III suggests that with ageing of cocks during this developmental stage the closeness of relationships between gonad development and the above mentioned haematological indices increased.

Breeder cocks were also used to determine relationships between haematological and reproductive indices. A total of 148 breeder cocks from 25 to 30 weeks of age were examined. Of haematological indices haemoglobin content, erythrocyte count and haematocrit value were studied. Reproductive indices included ejaculate volume, sperm motility and sperm concentration. The results obtained from the group of cocks were summarized in Tab. IV. The average values for haematological indices served in subsequent analyses as criteria

of dividing the basic group into two subgroups within each haematological parameter-superior (Group A) and inferior (Group B) cocks.

The limit value for haemoglobin was 120 g.l^{-1} . By application of this criterion two subgroups were formed. Haemoglobin content in Group A and Group B averaged 133.97 and 105.94 g.l^{-1} , respectively.

Tab. V gives a comparison of reproductive indices related to haemoglobin content. The results indicated that there were no differences in ejaculate volume and sperm motility between the means of Groups A and B. In contrast, a highly significant difference ($P \leq 0.01$) was recorded in sperm concentration. Similar conclusions were reached in the total erythrocyte counts, as shown in Tab. V. No differences were obtained between Groups A and B in ejaculate volume and sperm motility. But there were differences between average values in the groups ($P \leq 0.05$) for sperm concentration/cm³ of ejaculate.

The assessment of reproductive indices in relation to haematocrit value revealed no significant differences between the means of subgroups, as shown in Tab. V.

The above stated results indicated that there were relationships between the haematological indices and sperm concentration per cubic centimeter of ejaculate. The results summarized in Tab. VI showed sperm concentrations in superior cocks, selected on the basis of individual haematological indices. A high sperm concentration of $1.945 \text{ billion/cm}^3$ was recorded in cocks

III. Correlations between gonad weight, haematocrit, haemoglobin and body weight

Week	10	15	20	25	10-25
<i>Testes sinistra</i>					
Testes dextra	+0.8387	+0.9229	+0.9783	+0.8787	+0.9776
Haematocrit		+0.5141	+0.6514	+0.7657	+0.9186
Haemoglobin			+0.6250	+0.7477	+0.8976
Body weight		+0.7136	+0.6612	+0.8708	+0.8962
<i>Testes dextra</i>					
Haematocrit		+0.6520	+0.6998	+0.7578	+0.9355
Haemoglobin			+0.6757	+0.6136	+0.9052
Body weight		+0.7686	+0.6074	+0.7737	+0.8990

IV. Total characteristics of a set of breeder cocks in relation to selected haematologic and reproductive indices

	Hb	Er	Hk	O	A	K
	g.l ⁻¹	T.l ⁻¹	l.l ⁻¹	ml	%	mld/cm ³
<i>n</i>	148	148	148	148	148	148
\bar{x}	121.7	3.05	0.43	0.6	82.32	1.470
<i>s_{n-1}</i>	17.15	0.469	0.049	0.234	8.04	0.456
$s_{\bar{x}}$	1.049	0.039	0.004	0.019	0.069	0.037
<i>v</i>	14.09	13.39	11.31	38.90	9.76	25.78

V. Grouping of cocks according to haemoglobin level in relation to selected reproductive indices, A (Hb ≥ 120 g.l⁻¹), B (Hb < 120 g.l⁻¹), erythrocyte count A (Er ≥ 3.5 T.l⁻¹), B (Er < 3.5 T.l⁻¹) and to haematocrit value A (Hk ≥ 0.43 l.l⁻¹), B (Hk < 0.43 l.l⁻¹)

		<i>n</i>	\bar{x}			<i>n</i>	\bar{x}			<i>n</i>	\bar{x}
Hb	A	82	133.97	Er	A	72	3.86	Hk	A	82	0.46
	B	66	105.94**		B	76	3.07**		B	82	0.40**
g.l ⁻¹	A	82	0.63	O	A	72	0.58	O	A	82	0.57
	B	66	0.57		B	76	0.62		B	82	0.60
ml	A	82	82.65	A	A	72	82.85	A	A	82	83.14
	B	66	81.85		B	76	81.82		B	82	81.14
%	A	82	1.945	K	A	72	1.860	K	A	82	1.820
	B	66	1.559**		B	76	1.636**		B	82	1.692
mld/cm ³	A	82	1.945	K	A	72	1.860	K	A	82	1.820
	B	66	1.559**		B	76	1.636**		B	82	1.692

* $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$

VI. Selection of cocks according to haematological indices in relation to sperm concentration in ejaculate

Index	<i>n</i>	\bar{x}	<i>s_{n-1}</i>	<i>s</i> ²	$s_{\bar{x}}$	<i>v</i>
Hb	82	1.945	0.355	0.126	0.039	18.25
Er	72	1.860	0.366	0.134	0.043	19.60
Hk	85	1.820	0.418	0.174	0.045	22.95
Hb, Er	49	1.955	0.346	0.120	0.049	17.69
Hb, Er, Hk	38	1.991	0.350	0.122	0.057	17.56

with haemoglobin (Hb) content above 120 g.l⁻¹. A lower average value for sperm concentration of 1.860 billion/cm³ as found in cocks with the total erythrocyte (Er) count exceeding 3.5 T.l⁻¹ and the lowest value of 1.820 billion/cm³ was in cocks with hae-

matocrit value (Hk) above 0.43 l.l⁻¹. The highest average values of 1.955 and 1.991 billion/cm³ were found in cocks superior in two (haemoglobin, erythrocytes) or three (haemoglobin, erythrocytes, haematocrit) haematological indices.

DISCUSSION

The study results confirmed that there were relationships between some haematological indices (haemoglobin content, haematocrit value and total erythrocyte count), gonad development in the course of sexual maturation and sperm concentration in ejaculate during the stage of sexual maturity in breeder cocks.

The fact was also revealed in some previous studies, e.g. Suchý et al. (1988), which showed that cocks with underdeveloped gonads exhibited highly significantly ($P \leq 0.01$) lower levels of haemoglobin, erythrocytes and haematocrit.

The dramatic developmental changes in the gonads of the cocks occurred between 15 and 20 weeks of age when gonad weight and dimensions highly significantly increased ($P \leq 0.01$). At this period also haemoglobin, total erythrocyte count haematocrit value significantly increased.

The changes in blood count were in agreement with the results of Suchý et al. (1989). The authors found a marked increase in haemoglobin, erythrocyte count and haematocrit in the course of sexual maturation in cocks.

The association between gonad development and the haematological indices observed was also supported by the correlation analysis showing positive correlations between gonad weight, haematocrit value and haemoglobin (Tab. III).

A very close relationship was determined between gonad weight and haematocrit value between 15 and 25 weeks of age. It was found that with increasing age in cocks the relationships became closer. At the age of 15 weeks there was a correlation between the weight of the right gonad and haematocrit value expressed by the correlation coefficient $r = +0.5140$, at 20 and 25 weeks the correlation coefficients were $r = +0.6514$ and $r = +0.7657$, respectively. Similar correlations were also reported for the left gonad.

In cocks between 20 and 25 weeks of age there were positive correlations between gonad weight and haemoglobin. From the age of 25 weeks the cocks were prepared for ejaculate collection.

A highly significant increase in haemoglobin, erythrocyte count and haematocrit value from 25 to 30 weeks of age suggested that there might be even a relationship between the haematological indices and the development of spermiogenesis. This hypothesis was supported by the results stating that breeder cocks with high haemoglobin and erythrocyte levels showed highly significantly increased ($P \leq 0.01$) sperm concentrations in ejaculate (Tab. V).

A similar relationship was also established by Cecil and Bakst (1993) in turkeys. The authors showed a relationship between haematocrit increase and functional maturity of gonads. They suggested that haematocrit increase could be used in the prediction of maturity of testicular sperms in breeder turkeys.

With the haematological indices under study used as a criterion for evaluation of ejaculate quality the conclusion was that the highest sperm concentration in ejaculate ($1.945 \text{ billion/cm}^3$) was recorded in cocks with high haemoglobin levels ($\text{Hb} \geq 120 \text{ g.l}^{-1}$). A slightly lower concentration of $1.860 \text{ billion/cm}^3$ was related to high levels of the total erythrocyte count ($\text{Er} \geq 3.5 \text{ T.l}^{-1}$) and the lowest concentrations of $1.820 \text{ billion/cm}^3$ was observed in cocks with high haematocrit value ($\text{Hk} \geq 0.43 \text{ l.l}^{-1}$). The highest sperm concentrations in ejaculate of $1.955 \text{ billion/cm}^3$ and $1.991 \text{ billion/cm}^3$ were found in cocks superior in two (haemoglobin, total erythrocyte count) or in three indices (haemoglobin, total erythrocyte count and haematocrit value).

Generally low values of sperm concentration in ejaculate compared with those generally indicated in adult cocks might be explained by the fact that these are young animals at the onset of reproduction, when the development of spermiogenesis only starts. We have proved that in this line (RIR) the onset of spermiogenesis was slower than in other lines. This is supported by the conclusions of Máchal et al. (1996), who revealed similar results in the same line. The authors indicated that the average sperm concentrations were $1.28 \pm 0.43 \text{ billion.cm}^{-3}$ at week 24; $2.50 \pm 0.76 \text{ billion.cm}^{-3}$ at week 37 and $3.05 \pm 1.05 \text{ billion.cm}^{-3}$ at week 50.

The results suggested that the changes observed in the blood count of cocks were related to the development of gonads and spermiogenesis. These findings could also be used as one of the criteria of the level of reproductive performance in breeder cocks. But it is necessary to realize that these relationships could only be found in healthy animals and that there is a number of other external and internal factors that influence erythropoiesis. In spite of that it can be presumed that the relationships found are generally applicable.

The conclusions presented in this study are similar to those reported in cocks by Suchý et al. (1988, 1989) and in male Japanese quail by Straková et al. (1994), which indicated marked changes in erythrocyte count in males during sexual maturation. Moreover, it has been concluded that there are relationships between the haematological indices under study, gonad development in cocks reaching maturity and the sperm concentration in the ejaculate of adult cocks. Similar results have also been reported by Cecil and Bakst (1991) in breeder turkey males. The authors have found that in male turkey the weight of gonads considerably increased between 20 and 22 weeks of age. They have noted the association between and increase in haematocrit value and gonad development.

Although we are aware of a number of external and internal factors that may influence the development of gonads, qualitative and quantitative parameters of the ejaculate, we have revealed a close relationship between some reproductive and haematological indices.

These conclusions might be used as one of the criteria of cock selection for reproduction. Cocks with high levels of haemoglobin, erythrocytes and high haematocrit value are most suitable for high reproductive performance.

REFERENCES

CECIL, H. C. – BAKST, M. R.: Correlation of organ weights, hematocrit and testosterone with sexual maturity of the male turkey. *Poult. Sci.*, 70, 1993: 1252–1257.
JANTOŠOVIČ, J.: Changes in blood count in chicks affected by pest. *Folia Veter.*, 13, 1967: 199–202.
MÁCHAL, L. – KALOVÁ, J. – JURÁŇ, P. – JEŘÁBEK, S.: The dynamics of the relationship between ejaculate quality

and cholesterol and total lipids concentration in the blood plasma in two lines of the cocks. *Arch. Tierz.*, 39, 1996: 61–68.

STRAKOVÁ, E. – SUCHÝ, P. – KLECKER, D.: Changes in haematological and biochemical characteristics of blood of broilers during fattening. *Živoč. Vyr.*, 38, 1993: 725–734.
SUCHÝ, P. – JEŘÁBEK, S. – MÁCHAL, L. – STANĚK, S.: Relationship between the development of gonads in cockerels and the haematological and biochemical parameters of blood. *Živoč. Vyr.*, 33, 1988: 987–996.
SUCHÝ, P. – JEŘÁBEK, S. – STANĚK, S. – ZELENKA, J.: Dynamics of changes in the blood picture and biochemical indicators of blood plasma in breeder cocks during the period of sexual maturation. *Živoč. Vyr.*, 34, 1989: 741–750.

Received for publication on December 27, 1996

Contact Address:

Doc. MVDr. Ing. Pavel Suchý, CSc., Veterinární a farmaceutická univerzita, Palackého 1–3, 612 42 Brno, Česká republika, tel.: 05/41 56 25 41, fax: 05/41 21 11 51

THE EFFECT OF MICROBIAL PHYTASE IN FEED MIX FOR EARLY WEANING ON PHOSPHORUS AND CALCIUM DIGESTIBILITY AND UTILIZATION IN PIGLETS

VLIV MIKROBIÁLNÍ FYTÁZY V KRMNÉ SMĚSI PRO ČASNÝ ODSTAV NA STRAVITELNOST A VYUŽITÍ FOSFORU A VÁPŇÍKU U SELAT

P. Zobač, I. Kumprecht, K. Šimeček

Research Institute of Animal Nutrition, Pohořelice, Czech Republic

ABSTRACT: A phytase containing enzymic preparation was used in metabolism trials; it was produced in a pilot plant of the Institute of Microbiology in the Academy of Sciences of the Czech Republic in Praha-Krč, using recently isolated strain 921 of *Aspergillus niger* (phytase CZ). Phytase activity of this preparation was determined to be 490 PU/g. The phytase containing enzymic preparation was applied at concentrations of 0, 50, 100, 150 g per 100 kg in the first metabolism trial on piglets to determine its most efficient concentration in feed mix for early weaning of piglets without dicalcium phosphate (DiCaP). The calculated coefficient of P digestibility was highest in the group of piglets receiving diet (1a₂) containing 100 g of phytase per 100 kg feed. An increase against the control 1a₀ was 7.3%. Daily P retention was also highest in the group of piglets 1a₂, corresponding to a difference of 6.8% in comparison with the control group of piglets. Similarly like in phosphorus, the coefficient of Ca digestibility had the highest value in the group of piglets receiving diet 1a₂ 83.9%, which is by 3.8% more than in the control. Daily Ca retention was also highest in the piglet group 1a₂, by 16.3% in comparison with the control group of piglets. P and Ca outputs in excrements were decreasing proportionately with increasing phytase concentrations. The effectiveness of optimum concentrations of phytase containing enzymic preparation was studied in the second metabolism trial on piglets using different DiCaP contents in feed mix for early weaning of piglets. The coefficient of P digestibility ranged within the boundaries of natural variability in all groups of piglets. The highest coefficient of P digestibility 69.2% was calculated for the experimental group of piglets receiving a diet with 75% DiCaP (2a₁), which is by 10.8% more than in the control group, in which the piglets received a diet with 100% DiCaP. Daily P retention was highest in the group of piglets on a diet for early weaning of piglets containing phytase and 25% DiCaP (2a₃), which was a difference of 13.8% against the control group of piglets. Reduction in the content of inorganic P in phytase containing feed mixes resulted in a significant decrease in P output in urine and excrements. Referring to the experimental results, DiCaP content in feed mix for early weaning of piglets should be decreased if the effective phytase containing enzymic preparation is used.

phytase; activity; concentration; piglets; growth; feed consumption; calcium; phosphorus; digestibility; retention; excrements

ABSTRACT: K bilančním pokusům na selatech hybrida BU x L po odstavu byl použit enzymový preparát obsahující fytázu, vyrobený v poloprovazním zařízení Mikrobiologického ústavu AV ČR v Praze-Krči fermentací pomocí nově izolovaného kmene *Aspergillus niger* 921 (fytáza CZ). U získaného preparátu byla stanovena aktivita fytázy 490 PU.g⁻¹. V prvním bilančním pokusu na selatech byl použit enzymový preparát s fytázou v koncentracích 0, 50, 100, 150 g na 100 kg ke stanovení nejúčinnější hladiny v krmné směsi pro časný odstav selat bez dikalciumfosfátu (DiCaP). Zjištěný koeficient stravitelnosti P byl nejvyšší u skupiny selat krmných směsí 1a₂, obsahující 100 g fytázy na 100 kg směsi. Zvýšení ve srovnání s kontrolou 1a₀ činilo 7,3 %. Denní retence P byla rovněž nejvyšší u skupiny selat 1a₂, což ve srovnání s kontrolní skupinou selat činilo 6,8 %. Koeficient stravitelnosti Ca dosáhl, stejně jako u fosforu, nejvyšší hodnoty u skupiny selat krmných směsí 1a₂ – 83,9 %, což je o 3,8 % více ve srovnání s kontrolou. Denní retence Ca byla rovněž nejvyšší u skupiny selat 1a₂, a to o 16,3 % ve srovnání s kontrolní skupinou selat. Množství vyloučeného P i Ca v exkrementech se snižovalo úměrně se zvyšující se koncentrací fytázy. Ve druhém bilančním pokusu na selatech byla sledována účinnost optimální hladiny enzymového preparátu s fytázou při odstupňovaných hladinách DiCaP ve směsi pro časný odstav selat. Koeficient stravitelnosti P se u všech skupin selat pohyboval v mezích přirozené variability. Nejvyšší koeficient stravitelnosti P 69,2 % byl zjištěn u pokusné skupiny selat krmných směsí se 75 % DiCaP (2a₁), což je o 10,8 % více než v kontrolní skupině, kde byla selata krmna směsí se 100 % DiCaP. Denní retence P byla nejvyšší u skupiny selat, která byla krmna směsí pro časný odstav selat s fytázou a 25 % DiCaP (2a₃), což ve srovnání s kontrolní skupinou selat činilo 13,8 %. Snižování množství anorganického P ve směsích obsahujících fytázu mělo za následek významné snížení množství vyloučeného P v moči a výkalech. Na základě získaných výsledků je možné doporučit snížení obsahu DiCaP ve směsi pro časný odstav selat při použití účinného enzymového preparátu s fytázou.

fyttáza; aktivita; koncentrace; selata; růst; spotřeba krmiva; vápník; fosfor; stravitelnost; retence; exkrementy

INTRODUCTION

Feed mixes for piglets and pigs mostly consist of feeds from plant sources and of by-products from their processing. Utilization of phosphorus from some feeds for pigs corn (12%), barley (31%), wheat (50%), soybean meal (35%) in relation to sodium phosphate utilization (100%) is reported by Cromwell (1990). It is obvious that a major part of phosphorus uptake from grains and legumes is not utilized by pigs, leaving the digestive tract in excrements. Pig excrements contain 1.2–1.8% of phosphorus. It is estimated that the annual phosphorus output in pig excrements amounts to about 12–15 thousand tons per year. On the one hand, this phosphorus quantity is a load to the soil, and consequently to water resources, on the other mineral supplements must be used to meet the utilizable phosphorus requirement.

The concept intestinally utilizable phosphorus was introduced in the Federal Republic of Germany (DLG 1987). It was proposed to identify three phosphorus fractions with different intestinal utilization (IUP):

- x_1 – inorganic phosphorus including phosphorus from feeds from animal sources
- x_2 – nonphytate phosphorus
- x_3 – phytate phosphorus.

Intestinally utilizable phosphorus is the sum of the above mentioned three fractions multiplied by respective (proposed) coefficients of utilization:

$$\text{IUP} = 0.95 x_1 + 0.80 x_2 + 0.40 x_3$$

Phytate can be decomposed by a hydrolytic reaction using the enzyme phytase and resulting in a release of phosphate ions, which promotes better utilization of phosphorus from phytate in the digestive tract of pigs and reduces its output in excrements.

Present legislation obliges the feed industry in some countries to provide for the highest utilization possible of phytate phosphorus by monogastric animals. Some companies producing biopreparations have responded to this situation. The Dutch company Gist Brocades believe that the enzymic preparation Natuphos applied in poultry and pig diets can reduce phosphorus content in excrements by 35–50%. The U.S. Alltech is another company producing a phytase containing preparation. The preparation Allzyme Phytase is comparable to Natuphos. A phytase producing microorganism has also been isolated in the Institute of Microbiology in the Academy of Sciences. A technological procedure has been recently developed for phytase production at an industrial scale.

Much practical experience in the application of phytase containing preparations to feeds for piglets has been reported. Lei et al. (1993) conducted metabolism and feeding trials on piglets after weaning to determine the efficiency of phytase, produced by fermentation of *Aspergillus niger*, in feed mix containing corn and soya without inorganic phosphorus supplementation. They

drew a conclusion in the first metabolic trial on 12 piglets that phytase applied at a concentration of 750 PU/g increased phosphorus retention and decreased phosphorus output in excrements by 42%. The effect of different phytase concentrations (0, 250, 500 and 750 PU/g) in basic feed mix was examined in a feeding trial on 96 piglets. A conclusion was drawn that the applied phytase concentrations linearly increased phytate phosphorus utilization, not affecting significantly the live weight gains of piglets nor feed consumption.

Windisch et al. (1994) reported on the positive effect of phytase preparation applied in feed mix containing wheat, barley, soya and different concentrations of phosphorus mineral supplement.

Similar problems were studied by Pallauf et al. (1994), who examined the effect of microbial phytase on the utilization of P, Ca, Mg, Zn and proteins in feed mix rich in phytate phosphorus and containing wheat, barley and soya as basic ingredients.

The objective of this paper was to determine an optimum concentration of microbial phytase produced by submerged fermentation of *Aspergillus niger* 921 in relation to a reduced content of inorganic phosphorus supplement in form of dicalcium phosphate (DiCaP) in feed mixes for early weaning of piglets.

MATERIAL AND METHODS

A phytase containing enzymic preparation was used for metabolism trials on piglets; it was produced by fermentation of recently isolated strain 921 of *Aspergillus niger* (phytase CZ) in a pilot plant of the Institute of Microbiology in the Academy of Sciences in Praha-Krč. The production and isolation of phytase containing preparation were optimized in laboratories and in the pilot plant of the Institute of Microbiology in the Academy of Sciences in Praha-Krč (Volfová et al., 1994). Phytase activity of this preparation was determined to be 490 PU/g. Maximum activity was recorded at temperatures ranging from 50–55 °C and pH value of the medium 5.0. The procedure of determining phytase activity: hydrolysis of dodecasodium salt of phytic acid in water solution using phytase for this reaction while inorganic phosphorus is produced, which in combination with a molybdate-vanadate agent forms the yellow colored complex measurable on a spectrophotometer at 400 nm. A phytase unit (PU) is such an amount of the enzyme that will release 1 μmol per minute of inorganic phosphorus from the dodecasodium salt of phytic acid in standard conditions (pH = 5.0; temperature of 50 °C; reaction time 20 minutes) (Zobač et al., 1994).

Two metabolism trials were conducted on weaned piglets of LW x L hybrid using the above described preparation. The phytase containing preparation was used at concentrations of 0, 50, 100, 150 g per 100 g of feed in the first metabolism trial on piglets to determine the most effective concentration of this enzymic

I. Formulation and nutrient content of feed mixes for early weaning of piglets

Ingredient	Content in %	
	trial 1	trial 2
Fish meal	5	5
Skim milk powder	10	10
Soybean meal	16	16
Potato flakes	10	10
Barley groats	15	15
Wheat groats	18.3	18.3
Corn groats	13	13
Wheat meal	5.125	5
Wheat germs	3	3
Feeding sugar	3	3
Feeding salt	0.2	0.2
¹⁾ Biofactor supplement Bioviton ČOS Plus	0.5	0.5
²⁾ Mineral supplement I	0.075	-
Limestone	0.8	-
³⁾ Mineral feed additive - S	-	1
Dry matter	89.51	89.65
Ash	5.99	6.22
Fat	1.91	1.76
Crude protein	21.71	21.00
Fiber	3.77	4.18
Ca (g/kg)	8.65	see the method
P (g/kg)	3.98	see the method

¹⁾ Biofactor supplement Bioviton ČOS Plus contains: vitamin A 2 000 000 i.u., vitamin D3 400 000 i.u., vitamin E 6 000 mg, vitamin K3 300 mg, vitamin B1 200 mg, vitamin B2 900 mg, vitamin B6 400 mg, vitamin B12 4 mg, niacin 4 000 mg, calcium pantothenate 2 000 mg, biotin 20 mg, choline 80 000 mg, vitamin C 8 000 mg, L-lysine HCl 250 000 mg

²⁾ Mineral supplement-I contains: iron sulfate 300 000 mg, copper sulfate 17 000 mg, zinc oxide 65 000 mg, manganese oxide 27 000 mg, cobalt sulfate 2 000 mg, potassium iodide 500 mg, siloxide 20,000 mg, feeding wheat meal ad 1 kg

³⁾ Mineral feed additive contains: dicalcium phosphate 37.5%, MD-1 7.5%, feeding limestone 18.0%, feeding meal 37.0%

preparation. Tab. I shows the formulation of feed mix for early weaning of piglets. The feed did not contain any DiCaP. The trial was conducted on 8 piglets that were housed in balance cages where excrement and urine collection and feed metering are feasible. The preparatory period lasted 9 days and balance period 5 days. All excrements were stored in a freezer at -18 °C. The excrements were homogenized after the balance period terminated; a sample of ca. 1 kg was taken, lyophilized, ground and analyzed. A 10% portion was taken from the 24-hour urine quantity, and it was stored in a freezer. Urine was analyzed after thawing.

The effectiveness of an optimum concentration of phytase containing enzymic preparation was studied in the second metabolism trial using different DiCaP contents. This metabolism trial involved 12 piglets housed individually in balance cages where excrement and urine collection and feed metering are feasible. The balance was drawn similarly like in the preceding case. Tabs. I and II show the formulation of feed mix for early weaning of piglets and mineral feed supplement with different DiCaP contents. Ca and P contents in the experimental feed mixes were as follows:

	2a ₀	2a ₁	2a ₂	2a ₃
Ca g/kg	6.73	6.45	6.54	6.32
P g/kg	6.03	5.74	5.50	5.25

Dry matter, crude protein, fat, fiber, ash, Ca and P contents were determined in feed mixes and excrements. Contents of nitrogen, phosphorus and calcium were determined in urine. Analyses of feed mixes and excrements were done pursuant to the methodologies set down by the standard CSN 46 7007 (1973). Phosphorus content was determined according to the standard CSN 46 7092 (1985). Calcium content was determined manganometrically. The results were processed by analysis of variance (Snedecor, Cochran, 1969) and by the method of parabolic regression (Zeman, 1986).

RESULTS AND DISCUSSION

The objective of the first metabolism trial on piglets was to determine the most effective concentration of phytase-containing preparation applied in feed mix for

II. Composition of mineral feed supplement (MKP-S) to feed mix for early weaning of piglets with different DiCaP contents (trial 2)

Ingredient	Unit	Feed mix			
		2a ₀	2a ₁	2a ₂	2a ₃
Dicalcium phosphate	g	688	516	344	172
Feeding limestone	g	90	190	290	390
Mineral supplement I	g	38	38	38	38
Feeding meal	g	184	256	328	400
Phytase	g	100	100	100	100

early weaning of piglets without DiCaP. Coefficients of P and Ca digestibility, P and Ca retention and utilization (Tab. III) were selected as the basic characteris-

tics to evaluate the effect of different phytase concentrations. The coefficient of P digestibility was highest in the group of piglets receiving feed mix 1a₂ containing 100 g of phytase per 100 kg of feed. The increase was 7.3% in comparison with the control 1a₀. Daily P retention was also highest in the group of piglets 1a₂, representing an increase of 6.8% against the control group of piglets. A nearly identical relation was observed in P utilization from P uptake, when the increase in the group of piglets receiving feed mix 1a₂ amounted to 7.6% against the control group of piglets (1a₀). An almost identical pattern was determined for utilization of P from P uptake in all three experimental groups (1a₁, 1a₂, 1a₃) in comparison with the control (1a₀). Similarly like in phosphorus, the highest values of Ca

III. The effect of different concentrations of phytase containing enzymic preparation in feed mix for early weaning of piglets on P and Ca digestibility in piglets (trial 1)

Characteristic (n = 6)	Unit	Variants			
		1a ₀	1a ₁	1a ₂	1a ₃
Starting weight	kg	8.60	8.78	8.75	8.85
S.D.	kg	±0.000	±0.601	±0.212	±1.485
Index	%	100.00	102.09	101.74	102.91
Terminal weight	kg	20.00	20.58	20.10	20.65
S.D.	kg	±0.707	±0.247	±0.707	±1.061
Index	%	100.00	102.90	100.50	103.25
Coefficient of P digestibility	%	72.17	75.35	77.46	76.67
S.D.	%	±8.939	±7.465	±7.428	±6.475
Index	%	100.00	104.41	107.33	106.24
Daily P retention	g	1.32	1.38	1.41	1.40
S.D.	g	±0.456	±0.436	±0.435	±0.423
Index	%	100.00	104.55	106.82	106.06
Utilization of P from P uptake	%	70.60	73.87	75.97	75.08
S.D.	%	±9.201	±7.453	±7.471	±6.263
Index	%	100.00	104.63	107.61	106.35
Utilization of P from digested P	%	97.76	98.02	98.06	97.94
S.D.	%	±0.876	±0.419	±0.300	±0.203
Index	%	100.00	100.27	100.31	100.18
Coefficient of Ca digestibility	%	80.83	82.07	83.93	82.12
S.D.	%	±6.378	±5.075	±5.111	±3.624
Index	%	100.00	101.53	103.84	101.60
Daily Ca retention	g	2.45	2.64	2.85	2.80
S.D.	g	±0.866	±0.667	±0.893	±0.835
Index	%	100.00	107.76	116.33	114.29
Utilization of Ca from Ca uptake	%	59.86	64.92	70.42	69.28
S.D.	%	±8.231	±7.423	±6.511	±5.445
Index	%	100.00	108.45	117.64	115.74
Utilization of Ca from digested Ca	%	73.78 ^A	78.97 ^{AB}	83.81 ^{AB}	84.29 ^B
S.D.	%	±4.678	±5.735	±4.032	±3.866
Index	%	100.00	107.03	113.59	114.25

The capital letters denote the values highly significantly different at $P < 0.01$

Legend: 1a₀ - 0 g phytase per 100 kg feed

1a₂ - 100 g phytase per 100 kg feed

1a₁ - 50 g phytase per 100 kg feed

1a₃ - 150 g phytase per 100 kg feed

IV. P and Ca outputs in excrements and urine of piglets receiving feed mix for early weaning of piglets with different concentrations of phytase (trial 1)

Characteristic	Unit	Variants			
		1a ₀	1a ₁	1a ₂	1a ₃
P output in excrements	g/kg	3.457	2.984	2.736	2.525
Index	%	100.00	86.32	79.14	73.04
Ca output in excrements	g/kg	5.140	4.804	4.291	4.384
Index	%	100.00	93.46	83.48	85.29
P output in urine	g/kg	0.111	0.111	0.108	0.107
Index	%	100.00	100.00	97.30	96.40
Ca output in urine	g/kg	3.275	2.906	2.074	1.961
Index	%	100.00	88.73	63.33	59.88
Total P output	g/kg	3.568	3.095	2.844	2.632
Index	%	100.00	86.74	79.71	73.77
Total Ca output	g/kg	8.415	7.710	6.365	6.345
Index	%	100.00	91.62	75.65	75.40

Legend: 1a₀ - 0 g phytase per 100 kg feed
1a₁ - 50 g phytase per 100 kg feed

1a₂ - 100 g phytase per 100 kg feed
1a₃ - 150 g phytase per 100 kg feed

digestibility coefficient were calculated for the group of piglets receiving feed mix 1a₂ 83.9%, which is by 3.8% more than in the control. Utilization of Ca both from Ca uptake and from digested Ca showed the highest values 70.4 and 83.8%, respectively, in the group of piglets receiving feed mix 1a₂, which corresponds to the increase of 17.6 and 13.6%, resp., in comparison with the control group 1a₀.

P and Ca output was determined in the excrements of piglets receiving feed mix for early weaning of piglets without DiCaP, and with different phytase concentrations (Tab. IV). P and Ca output in the excrements was decreasing proportionally with increasing phytase concentrations.

The results of the experiments document that the most effective concentration of the phytase-containing enzymic preparation was applied in feed mix 1a₂, which contained 100 g of phytase per 100 kg of feed for early weaning of piglets, in which no inorganic phosphorus supplement in form of dicalcium phosphate was used. This finding is also confirmed by equations of a polynomial of second degree with inflection point (Tab. V) calculated for the relations of P digestibility coefficient and P retention to different phytase concentrations in experimental feed mixes. The inflection point for the coefficient of P digestibility was at the concentration of 114.3 g, and for daily P retention at the concentration of 113.6 g of phytase per 100 kg of feed.

The effect of the different concentrations of enzymic preparation on average daily weight gain and feed consumption per 1 kg weight gain was only insignificant. Average daily weight gain ranged from 291 g to 303 g, feed consumption per 1 kg of weight gain from 1.430 kg to 1.367 kg. This finding is confirmed by the results reported by Lei et al. (1993).

V. Polynomial regression of the effect of phytase preparation concentrations on P digestibility and daily retention (trial 1)

Coefficient of P digestibility	$y = 72.078468 + 0.090772x - 0.000397x^2$
	correlation index 0.99
	determination index 98.9
	x - extreme 114.3
Daily P retention	$y = 1.319501 + 0.001590x - 0.000007x^2$
	correlation index 1.00
	determination index 100.0
	x - extreme 113.6

Trials conducted by the authors cited in the References section document that the content of mineral phosphorus supplement also plays an important role when phytase is used to increase phytate phosphorus digestibility. This is the reason why the second metabolism trial on piglets was conducted, in which the effectiveness of the optimum concentration of phytase containing enzymic preparation was examined at different DiCaP contents. Tab. VI shows the effect of different DiCaP contents (25%, 50%, 75%, 100%) and of the enzymic preparation at a concentration of 100 g per 100 kg of feed mix for early weaning of piglets on P and Ca digestibility coefficients, P and Ca retention and utilization in piglets. The coefficient of P digestibility ranged within the limits of natural variability in all groups. The highest coefficient of P digestibility 69.2% was calculated for the experimental group of piglets receiving feed mix with 75% DiCaP (2a₁), which is by 10.8% more than in the control group 2a₀, in which the piglets received feed mix with 100% DiCaP. Daily P retention was highest in the group of piglets which received feed mix for early weaning of piglets with

VI. The effect of different DiCaP contents in phytase containing feed mixes for early weaning of piglets on P and Ca digestibility in piglets (trial 2)

Characteristic (n = 9)	Unit	Variants			
		2a ₀	2a ₁	2a ₂	2a ₃
Starting weight	kg	7.97	7.90	7.53	7.80
S.D.	kg	±0.986	±0.100	±0.737	±1.992
Index	%	100.00	99.12	83.95	86.96
Terminal weight	kg	17.18	16.97	16.22	16.73
S.D.	kg	±1.347	±0.208	±0.425	±0.721
Index	%	100.00	98.78	94.41	97.38
Coefficient of P digestibility	%	62.49	69.21	62.08	64.49
S.D.	%	±4.435	±4.541	±8.475	±7.308
Index	%	100.00	110.75	99.34	103.20
Daily P retention	g	1.74	1.94	1.90	1.98
S.D.	g	±0.120	±0.096	±0.155	±0.123
Index	%	100.00	111.49	109.20	113.79
Utilization of P from P uptake	%	49.18 ^A	58.80 ^{AB}	54.73 ^{AB}	61.96 ^B
S.D.	%	±4.435	±3.019	±7.978	±6.379
Index	%	100.00	119.56	111.29	125.99
Utilization of P from digested P	%	78.98 ^A	85.08 ^{AB}	88.11 ^{BC}	96.20 ^C
S.D.	%	±7.886	±3.384	±5.103	±2.132
Index	%	100.00	107.72	111.56	121.80
Coefficient of Ca digestibility	%	62.83	68.39	60.87	65.36
S.D.	%	±6.514	±6.261	±9.882	±12.429
Index	%	100.00	108.85	96.88	104.03
Daily Ca retention	g	2.48	2.65	2.58	2.61
S.D.	g	±0.238	±0.234	±0.279	±0.335
Index	%	100.00	106.85	104.03	105.24
Utilization of Ca from Ca uptake	%	62.28	67.61	60.18	63.05
S.D.	%	±6.494	±6.229	±10.036	±12.722
Index	%	100.00	108.56	96.63	101.24
Utilization of Ca from digested Ca	%	99.11 ¹	98.85 ^{1,2}	98.80 ^{1,2}	96.37 ²
S.D.	%	±0.253	±0.422	±0.566	±4.051

The capital letters denote the values highly significantly different at $P < 0.01$

The figures denote the values significantly different at $P < 0.1$

Legend: 2a₀ – 100% DiCaP

2a₂ – 50% DiCaP

2a₁ – 75% DiCaP

2a₃ – 25% DiCaP

phytase and 25% DiCaP (2a₃); this corresponded to an increase of 13.8% in comparison with the control group. Utilization of P from P uptake was linearly decreasing with increasing DiCaP contents in feed mixes for early weaning of piglets containing phytase. The highest utilization of P from digested P was observed in the group of piglets 2a₃, the lowest in the group of piglets 2a₀ receiving feed mixes for early weaning of piglets containing phytase and 100% DiCaP. This relationship was also linear. The different DiCaP contents in feed mixes for early weaning of piglets receiving phytase (Tab. VI) did not have any significant effects on Ca digestibility in piglets. The calculated values ranged within the limits of natural variability.

The values of P utilization from P uptake and from digested P show that the use of feed mix for early

weaning of piglets containing phytase and increasing contents of inorganic P leads to higher output of unutilized P in urine and excrements (Tab. VII). This finding fully confirms the positive effect of the phytase preparation acting on the release of hardly utilizable phytate P, which is eliminated from the organism at higher DiCaP contents. A reduction in the content of inorganic P in feed mixes containing phytase to 25% resulted in a decrease in P output in urine and excrements by 40.3%. This value is in agreement with data presented in the paper by Lei et al. (1993), who stated that the application of microbial phytase helped to decrease phosphorus output in piglet excrements by 42%.

Average daily weight gain of piglets and feed consumption per 1 kg weight gain were influenced by different concentrations of enzymic preparation only in-

VII. P and Ca outputs in excrements of piglets receiving feed mix for early weaning of piglets containing phytase and different DiCaP contents (trial 2)

Characteristic	Unit	Variants			
		2a ₀	2a ₁	2a ₂	2a ₃
P output in excrements	g/kg	4.867	3.625	3.840	3.480
Index	%	100.00	74.48	78.90	71.50
Ca output in excrements	g/kg	5.305	3.949	4.504	3.872
Index	%	100.00	74.44	84.90	72.99
P output in urine	g/kg	1.878	1.655	1.091	0.547
Index	%	100.00	88.13	58.09	29.13
Ca output in urine	g/kg	0.075	0.103	0.069	0.089
Index	%	100.00	137.33	92.00	118.67
Total P output	g/kg	6.745	5.280	4.931	4.027
Index	%	100.00	78.28	73.11	59.70
Total Ca output	g/kg	5.380	4.052	4.573	3.961
Index	%	100.00	75.32	85.00	73.62

Legend: 2a₀ – 100% DiCaP
2a₁ – 75% DiCaP

2a₂ – 50% DiCaP
2a₃ – 25% DiCaP

significantly. Average daily weight gain ranged from 272 g to 288 g, feed consumption per 1 kg weight gain was in the range from 1.220 kg to 1.145 kg.

Referring to the above-mentioned experimental results it is possible to recommend a decrease in DiCaP content in feed mix for early weaning of piglets to 40%. As the preparation in question is the recently developed one, these results will be complemented by data acquired in a feeding trial conducted on a larger number of piglets.

REFERENCES

CROMWELL, G. L.: Application of phosphorus availability data to practical diet formulation. Proc. Carolina Nutr. Conf., 1990: 55–75.
LEI, X. G. – KU, P. K. – MILLER, E. R. – YOKOYAMA, M. T.: Supplementing corn-soybean meal diets with microbial phytase linearly improves phytate phosphorus utilization by weaning pigs. J. Anim. Sci., 71, 1993: 3359–3367.
PALLAUF, J. – RIMBACH, G. – PIPPIG, S. – SCHINDLER, B. – MOST, E.: Effect of phytase supplementation to a phytate-rich diet based on wheat, barley and soya on the bioavailability of dietary phosphorus, calcium, magnesium, zinc and protein in piglets. Agribiol.-Res., 47, 1994: 39–48.

SNEDECOR, G. W. – COCHRAN, W. C.: Statistical Methods. 6th ed. Ames, The Iowa State Univ. 1969.
VOLFOVÁ, O. – DVOŘÁKOVÁ, J. – HANZLÍKOVÁ, A. – JANDERA, A.: Phytase from *Aspergillus niger*. Folia Microbiol., 39, 1994: 481–484.
WINDISCH, W. – KIRCHGESSNER, M. – ROTH, F. X.: Effect of phytase supplementation to a wheat-barley-soya diet on production performance and apparent digestibility of P, Ca and Mg at varying dietary P levels in piglets. Agribiol.-Res., 47, 1994: 90–99.
ZEMAN, L.: Matematické metody a výpočetní technika ve výživě zvířat. In: Proc. VII. Letná škola biometrie, Bratislava, Ústav veterinárných informací a osvěty, 1986 (128): 60–66.
ZOBAČ, P. – KUMPRECHT, I. – ŠIMEČEK, K.: Omezení kontaminace životního prostředí fosforem pocházejícím z exkrementů monogastrických zvířat aplikací enzymových preparátů. [Final Report.] Pohořelice, VÚVZ 1994. 82 p.
ČSN 46 7007. Výživná hodnota krmiv. Praha, ÚNM 1973.
ČSN 46 7092, část 11. Metody zkoušení krmiv – stanovení fosforu. Praha, ÚNM 1985.
DLG: Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungswissenschaften 1987: Energie- und Nährstoffbedarf landwirtschaftlicher Nutztiere. Nr. 4 Schweine. Frankfurt, DGL-Verlag-GmbH, 1987.

Received for publication on January 30, 1997

Contact Address:

RNDr. Petr Zobač, CSc. Výzkumný ústav výživy zvířat, s. r. o., 691 23 Pohořelice, Česká republika, tel.: 0626/42 45 41, fax: 0626/42 43 66

**Nejčerstvější informace o časopiseckých člancích
poskytuje automatizovaný systém**

Current Contents

na disketách

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna odebírá časopis „**Current Contents**“ řadu „**Agriculture, Biology and Environmental Sciences**“ a řadu „**Life Sciences**“ na disketách. Řada „Agriculture, Biology and Environmental Sciences“ je od roku 1994 k dispozici i s abstrakty. Obě tyto řady vycházejí 52krát ročně a zahrnují všechny významné časopisy a pokračovací sborníky z uvedených oborů.

Uložení informací z Current Contents na disketách umožňuje nejrozmanitější referenční služby z prakticky nejčerstvějších literárních pramenů, neboť báze dat je **doplňována každý týden** a neprodleně expedována odběratelům. V systému si lze nejen prohlížet jednotlivá čísla Current Contents, ale po přesném nadefinování sledovaného profilu je možné adresně vyhledávat informace, tisknout je nebo kopírovat na disketu s možností dalšího zpracování na vlastním počítači. Systém umožňuje i tisk žádanek o separát apod. Kumulované vyhledávání v šesti číslech Current Contents najednou velice urychluje rešeršní práci.

Přístup k informacím Current Contents je umožněn dvojím způsobem:

1) Zakázkový přístup – po vyplnění příslušného zakázkového listu (objednávky) je vhodný především pro mimopražské zájemce.

Finanční podmínky: – použití PC – 15 Kč za každou započatou půlhodinu
– odborná obsluha – 10 Kč za 10 minut práce
– vytištění rešerše – 1 Kč za 1 stranu A4
– žádanky o separát – 1 Kč za 1 kus
– poštovné + režijní poplatek 15 %

2) „Self-service“ – samoobslužná práce na osobním počítači v ÚZLK.

Finanční podmínky jsou obdobné. Vzhledem k tomu, že si uživatel zpracovává rešerši sám, je to maximálně úsporné. (Do kalkulace cen nezapočítáváme cenu programu a databáze Current Contents.)

V případě Vašeho zájmu o tyto služby se obraťte na adresu:

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna

Dr. Bartošová

Slezská 7

120 56 Praha 2

Tel.: 02/24 25 79 39, l. 520, fax: 02/24 25 39 38

Na této adrese obdržíte bližší informace a získáte formuláře pro objednávku zakázkové služby. V případě „self-servisu“ je vhodné se předem telefonicky objednat. V případě zájmu je možné si objednat i průběžné sledování profilu (cena se podle složitosti zadání pohybuje čtvrtletně kolem 100 až 150 Kč).

VZTAHY KYSACÍ SCHOPNOSTI A DALŠÍCH TECHNOLOGICKÝCH VLASTNOSTÍ K VYBRANÝM PARAMETRŮM MLÉKA

RELATIONSHIPS OF FERMENTATION AND OTHER TECHNOLOGICAL CHARACTERISTICS TO SELECTED PARAMETERS OF MILK

V. Genčurová, O. Hanuš, E. Hrdinová, R. Jedelská, J. Kopecký

Research Institute for Cattle Breeding, Ltd, Rapotín, Czech Republic

ABSTRACT: Milk fermentation test is performed to determine the usability of milk for the production of fermented milk products. Its result depends on many factors involving the presence of inhibitory substances, basic milk composition and the way of performing the test itself. About 220 bulk milk samples were taken in monthly intervals during one-year observation; fermentation was evaluated by help of so called yoghurt test, other technological characteristics were also evaluated and their relationships to basic milk composition were determined. Tab. I shows basic statistical data; average value of milk fermentation indicated a relatively negative result 21.8 x 2.5 mmol/l with regard to the requirements of the standard CSN 57 0529. It can also be deduced from the average somatic cell counts (339 thousand/ml) that milk was collected in cowsheds with worse health situation. Urea concentration in milk was 24.5 mg/100 ml. Macroelement concentrations were also determined in the samples (Tab. II), e.g. magnesium concentration was low (98.8 mg/kg milk). Significance of differences between the characteristics in two groups classified according to fermentation below the limit 25 x 2.5 mmol/l and above it are shown in Tab. III. The difference was significant for the content of proteins, nonfat solids and for the higher values of fermentation. Curd firmness was found to be highest. Variations in some parameters were followed throughout the year (Fig. 1). Yearly fermentation values were low, except January and summer months, urea concentration was also highest in summer. Somatic cell counts were increasing throughout the year to reach the highest values in September. Tab. IV shows significant coefficients of correlation between the components and characteristics of bulk milk of cows, while Tab. V indicates the correlations between macroelements and other characteristics. Coefficients of correlation between fermentation and lactose ($r = 0.19$), nonfat solids ($r = 0.19$), curd firmness were positive ($r = 0.19$), but they were negative for conductivity ($r = -0.26$), curd quality ($r = -0.16$) and sodium ($r = -0.17$) and phosphorus ($r = -0.23$) concentrations. Milk titratable acidity showed a positive relation to the content of the separate components (fat, proteins and lactose). It showed a negative relation to sodium concentration and a positive relation to potassium content. A negative relationship between lactose concentration and somatic cell counts ($r = -0.36$) was confirmed, nonfat solids showed a positive relation to curd firmness, milk acidity, and to the separate components following titratable acidity fractionation. A negative relationship was confirmed between curd firmness and coagulation time ($r = -0.47$) while there was a positive relationship between curd firmness and calcium content ($r = 0.28$). Alcohol stability was influenced by variations in characteristics and milk composition to the least extent. Tests to determine the effects of residual quantities of disinfectants and cleaning agents were also performed. As shown, they should not influence the technological process on condition that the hygienic regime is observed. Low objectiveness of this test can be another cause of milk low fermentation.

basic composition of bulk milk samples; milk fermentation; curd quality; curd firmness; coagulation time; macroelement content; titratable acidity; fractionated titratable acidity; milk conductivity

ABSTRAKT: Během ročního sledování bylo v měsíčních intervalech odebráno cca 220 bazénových vzorků mléka, u kterých byla hodnocena kysací schopnost i další technologické vlastnosti mléka a zjišťován jejich vztah k základnímu složení mléka. Průměrná hodnota kysací schopnosti mléka (prováděná jogurtovým testem) dosáhla poměrně nepříznivého výsledku 21,8 x 2,5 mmol/l vzhledem k požadavkům normy ČSN 57 0529. Také podle průměrného počtu somatických buněk 339 tis./ml je možné usuzovat, že mléko bylo odebíráno ze stájí s horším zdravotním stavem zvířat. Hodnota močoviny v mléce byla 24,5 mg/100 ml. U vzorků byly zároveň zjišťovány obsahy makroprvků, např. obsah hořčiku byl nízký ve výši 98,8 mg/kg mléka. Průkazná diference mezi skupinami vzorků rozdělenými podle kysací schopnosti pod a nad hranici 25 x 2,5 mmol/l byla zjištěna pro obsah bílkovin a tukuprosté sušiny. Pro vyšší hodnoty kysací schopnosti byla zjištěna nejvyšší pevnost sýřeniny. Hodnoty kysací schopnosti v průběhu roku byly nízké, s výjimkou ledna a letních měsíců, v létě byl také nejvyšší obsah močoviny. Počty somatických buněk během roku narůstaly a nejvyšších hodnot bylo dosaženo v září. Koeficienty korelace mezi kysací schopností a obsahem laktózy ($r = 0,19$), tukuprostou sušinou ($r = 0,19$) a pevností sýřeniny byly kladné

($r = 0,19$), negativní byly k vodivosti ($r = -0,26$), kvalitě sýřeniny ($r = -0,16$) a obsahu sodíku ($r = -0,17$) a fosforu ($r = -0,23$). Titrační kyselost mléka je v kladném vztahu k obsahu jednotlivých složek (tuku, bílkovin a laktózy) a v negativním vztahu k obsahu sodíku. Byla potvrzena negativní závislost mezi obsahem laktózy a počtem somatických buněk. Obsah tukuprosté sušiny byl v pozitivním vztahu k pevnosti sýřeniny, ke kyselosti mléka; po frakcionaci titrační kyselosti i k jejím jednotlivým složkám. Negativní vztah byl potvrzen mezi pevností sýřeniny a časem koagulace a pozitivní mezi pevností sýřeniny a obsahem vápníku. Alkoholová stabilita byla ovlivněna změnou vlastností a složení mléka nejméně. V pokusech byly provedeny testy k určení vlivu zbytkových množství dezinfekčních a čistících preparátů. Podle zjištění by za předpokladu dodržení sanitačního režimu neměly ovlivnit technologický proces. Další příčinou nízké kysací schopnosti mléka může být malá objektivita tohoto testu.

základní složení bazénových vzorků mléka; kysací schopnost mléka; kvalita sýřeniny; pevnost sýřeniny; čas koagulace; obsah makroprvků; titrační kyselost; frakcionovaná titrační kyselost; vodivost mléka

ÚVOD

K produkci jakostních mléčných výrobků je třeba, aby mléko jako základní surovina pro jejich výrobu bylo co nejkvalitnější. Mléko musí vyhovovat senzoricými vlastnostmi a zároveň musí splňovat hodnoty chemické a mikrobiologické. O kvalitě finálních výrobků spolurozhodují i technologické vlastnosti mléka. Zpracovatelé vyrábějící kysané mléčné výrobky zařazují jako přídavný znak do systému oceňování mléka podle kvality také kysací schopnost mléka.

Cílem práce bylo určit vzájemné vztahy kysací schopnosti a dalších technologických vlastností bazénových vzorků mléka krav, chemického složení mléka a dalších vlastností.

Kysací schopnost mléka (KSM) hodnocená tzv. jogurtovým testem byla zpočátku používána hlavně jako kontrola přítomnosti inhibičních látek, zejména antibiotik, v mléce. Nyní se většinou vyskyt antibiotik stanovuje pomocí jednoduchých mikrobiologických testů využívajících *Bacillus stearothermophilus* (IN-test, Delvotest, BR-test); tyto testy jsou citlivější k jejich přítomnosti a nejsou tolik ovlivnitelné základním složením mléka. Zkouška kysací schopnosti mléka je nyní prováděna především k posouzení vhodnosti mléka pro výrobu produktů, jejichž kvalita závisí na tom, jaká bude aktivita a růst přidaných čistých mlékařských kultur. Technologické problémy mohou být způsobeny výskytem inhibičních látek (zejména léčiv), avšak i v případě jejich nepřítomnosti může být díky změněnému základnímu složení mléka a tím i jeho vlastnostem mléko nevhodné pro zpracování. Obsah kazeinu a zastoupení jeho frakcí, rovnováha kalcium-kazeinátového a kalcium-fosfátového komplexu, velikost a hydratační stupeň kazeinových micel, skladba dalších minerálních látek jsou některé další faktory ovlivňující nejen kysací schopnost, ale i další technologické vlastnosti, jako je syřitelnost (Kirst et al., 1985) a tepelná stabilita (Davies, White, 1958; Horne, Parker, 1982; Patrovský, Gajdůšek, 1988). Minerální látky v mléce podmiňují udržování acidobazické rovnováhy, přičemž rozhodující je vztah mezi vápníkem, sodíkem a draslíkem, a zúčastňují se tvorby sloučenin nezbytných pro život (jako aktivátory nebo jsou jejich součástí). Boroš (1989) uvádí, že mlékem

se vylučují přírodní baktericidní látky z některých rostlin, konzervační látky z krmiv a dále těžké kovy, mykotoxiny, které mohou ovlivnit růst mlékárenských kultur, ale častěji působí na zdraví dojníc a tím ovlivňují složení mléka. Uvádá, že výživa krav a zdravotní stav mléčné žlázy jsou hlavními činiteli určujícími vhodnost mléka pro zpracování. Časté problémy se vyskytují např. při přechodu dojníc na letní krmnou dávku. Mění se obsah dusíkatých látek mléka, často je při zvýšeném množství bílkovin krmiva a nedostatku energie zjišťován snížený obsah kazeinu a zvýšený obsah močoviny. V důsledku nízkého obsahu bílkovin a změny jejich zastoupení se snižuje hodnota tukuprosté sušiny. Někteří autoři (Podhorský, 1988 – cit. Hanuš, 1993; Suchánek, Gajdůšek, 1991) se domnívají, že zhoršenou KSM může způsobit vysoký obsah močoviny. Avšak Hanuš et al. (1993) uvádějí, že samotná vyšší hladina močoviny nezhorší zřetelně kysací schopnost, ale že zhoršení KSM je výsledkem změn probíhajících v mléce v důsledku metabolických poruch dojníc, které jsou provázeny zvýšením močoviny. Také mastitidní mléka zařazená do dodávky způsobují četné problémy a závady jakosti. Obsah bílkovin bývá nezměněn, mění se však poměr kazein : sérumalbumin, je snížen obsah laktózy, změněno zastoupení minerálních látek a soli a zvýšen obsah některých enzymů. V některých případech se zvyšuje množství imunoglobulinů, které mají inhibiční účinek na mléčné streptokoky – u některých kmenů způsobují výraznou aglutinaci. Při výrobě je pak možné pozorovat krupičkovou konzistenci nebo sraženinu (hlavně u jogurtů). Škardová (1994) uvádá, že také při získávání mléka může dojít ke kontaminaci čistícími a dezinfekčními prostředky. Gajdůšek (1992) potvrzuje důležitost podmínek, za kterých je mléko získáváno, ošetřováno a skladováno a na kterých závisí výchozí počet a zastoupení mikroorganismů v syrovém mléce.

MATERIÁL A METODY

Během ročního sledování bylo v měsíčních intervalech odebráno vždy cca 20 bazénových vzorků, podle předběžného monitoringu s nízkou a vysokou kysací schopností. Celkem bylo zanalyzováno 224 bazéno-

vých vzorků mléka krav plemen české strakaté a černostrakaté nížinné.

U vzorků byla v den odběru v laboratoři mlékárny určena titrační kyselost mléka (ml x 2,5 mmol/l NaOH), kysací schopnost mléka (KSM) jako spotřeba 2,5 mmol/l roztoku NaOH použitého k titraci mléka okyseleného kulturou R_x (Laktoflora). Další rozbory těchto vzorků mléka, přepravených při teplotě 6 °C a nekonzervovaných, byly provedeny v laboratoři VÚCHS Rapotín následující den. Bylo stanoveno základní složení mléka infraanalýzátorem Milko-Scan 133B (Foss Electric, Dánsko) tj. obsah tuku (T, % = g/100 ml), bílkovin (B, g/100 g = % hrubých bílkovin = veškerý dusík x 6,38), laktózy (L, g/100 g = % monohydrátu), tukuprosté sušiny a celkové sušiny (TPS, S g/100 g = % = výpočet). Počet somatických buněk (PSB) byl určován přístrojem Fossomatic 90 (Foss Electric, Dánsko), obsah močoviny (M, mg/100 ml) byl stanoven fotokolorimetricky na přístroji Spekol 11 při vlnové délce 420 nm (Karl Zeiss Jena, Německo), alkoholová stabilita (AS, ml) byla určena jako spotřeba 96% alkoholu přidávaného k 5 ml mléka až do vytvoření zřetelné sraženiny. Hodnota konduktivity (γ , mS/cm) byla měřena přístrojem Radelkis OK-102/1 (Maďarsko). Pro určení vlivu jednotlivých komponent přispívajících k titrační kyselosti mléka byla pomocí metody, kterou popsal Ling (1936 – cit. Webb, Johnson, 1965), frakcionována titrační kyselost mléka (K-M) pro syrovátku (K-S), kazein (K-K), syrovátkové bílkoviny (K-SB), koloidní kalcium-fosfát (K-KKF) a bod precipitace koloidního kalcium-fosfátu (K-PKKF). Syřitelnost byla určena jako čas potřebný ke koagulaci mléka po přidání ředěného syřidla Renilázy při 32 °C (ČK, s). Kvalita syřeniny byla subjektivně ohodnocena podle vzhledu a struktury koláče (KSy, třídy 1–3 od výborné po špatnou), pevnost syřeniny byla vyjádřena jako převrácená hodnota průniku volně padajícího tělíska do syřeniny za konstantních podmínek (tyčinka s tupým koncem, hmotnosti 1,24 g, průměru 4,5 mm, pouštěná z výšky 40 mm na více místech koláče). Metodou atomové absorpční spektrometrie na přístroji AAS-3 byly stanoveny obsahy makroprvků sodíku, draslíku, hořčíku, vápníku a celkového fosforu (mg/l). Obsah anorganického fosforu byl určen fotokolorimetricky přístrojem Spekol 11 při vlnové délce 630 nm (mg/100 g). U všech vzorků byl proveden IN-test (*B. stearothermophilus*) k vyloučení přítomnosti inhibičních látek. Případy určené IN-testem jako pozitivní byly ze sledování vyřazeny.

Kromě základních statistických údajů byly korelační analýzy vyhodnoceny vztahy mezi kysací schopností mléka a ostatními ukazateli souboru. Podle KSM byly vzorky rozděleny do dvou tříd s dělicí hodnotou 25 ml x 2,5 mmol/l; *t*-testem byla ověřena významnost rozdílů mezi třídami.

Na menším počtu vzorků bylo provedeno vyšetření obsahu peroxidů, saponátů, kvarterních amonných solí a aktivního chlóru v mléce, sloužící jako síto proti průniku dezinfekčních prostředků, za použití metod popsá-

ných ve vysokoškolských skriptech (Cvičení z mlékařství, VŠZ Brno).

VÝSLEDKY A DISKUSE

V tab. I jsou uvedeny základní statistické údaje uvedeného souboru. Průměrná hodnota KSM dosáhla poměrně nepříznivého výsledku 21,8 x 2,5 mmol/l vzhledem k požadavkům normy. Z celkového počtu mělo 209 vzorků (tj. 70,3 %) KSM nižší než 25 x 2,5 mmol/l, což je hranice požadovaná ČSN 57 0529. Rovněž z průměrného počtu somatických buněk 339 tis./ml je možné usoudit, že je třeba zvýšit kvalitu mléka nakupovaného v této pohraniční oblasti a že vzorky mléka pocházejí ze stájí s horším zdravotním stavem zvířat. Jak uvádí Škardová (1996), celostátní průměr PSB vypočítaný na základě údajů 74 okresů činil v roce 1995 218 tis./ml. Hodnota celostátního průměru vykazuje klesající tendenci, např. v období 1992–1994 poklesla o 20 tis./ml. V počtu buněk do 300 tis./ml bylo zahrnuto 75,1 % stád, v rozmezí 300–399 tis./ml bylo v celém státě 17,3 % stád. Počet somatických buněk, močovina a KSM, tj. ukazatele s blízkým vztahem ke zdravotnímu stavu krav, vykazovaly vysokou variabilitu (74 %, 38 %, 32 %), u bílkovin a laktózy byly nejnížší hodnoty (5,60 a 3,48 %). Obsah somatických buněk kolísal ve velmi širokém intervalu od 10 000 až do 1 723 000 v 1 ml mléka. Titrační kyselost mléka dosáhla hodnoty 6,62. Z technologických vlastností byla nejvyšší variabilita zjištěna u KSM (32,1 %) a času koagulace (22,3 %).

V tab. II jsou uvedeny naměřené údaje společně s údaji uváděnými v literatuře. Je patrný až o třetinu nižší obsah hořčíku, ostatní makroprvky odpovídají údajům, které uvádějí např. Hanuš a Foltys (1991). Hořčík se v organismu uplatňuje jako aktivátor a složka enzymů (např. v metabolismu sacharidů) a působí při regulaci vápníku. Hlásný a Hlásný (1991) uvádějí podstatné snižování obsahu Mg v mléce v uplynulých 30 letech. Nedosahuje nejen udávaných 150 mg/kg, ale ani 130 mg/kg udávaných v západoevropských zemích. Obsah 98,8 mg hořčíku v 1 kg mléka, který zjistili, odpovídá i hodnotě naměřené v tomto souboru. Vápník byl zjištěn ve výši 1 367 mg/l mléka. Dostatečné množství vápenatých solí podmiňuje schopnost mléka vytvářet působením syřidla pevnou sraženinu. Při zkysnutí mléka se zvyšuje množství rozpustných vápenatých solí následkem odštěpení z kazeinu.

Diference mezi skupinami, které byly rozděleny podle hodnoty kysací schopnosti nad a pod 25 x 2,5 mmol/l, jsou uvedeny v tab. III. Podle očekávání byl významný rozdíl v obsahu bílkovin 3,26 oproti 3,32 a v tukuprosté sušině 8,69 oproti 8,82 ve skupině s vyšší hodnotou KSM. Pokud hodnotíme syrařské vlastnosti, pevnost syřeniny se s vyšší hodnotou KSM zvyšuje a byla pro ni zjištěna nejvyšší statistická významnost. Také obsah močoviny dosáhl vyšších hodnot, což není v souladu s dřívějším pozorováním (H a -

I. Základní statistické ukazatele složení mléka, kysací schopnosti a dalších vlastností v bazénových vzorcích mléka – Basic statistical data on bulk milk sample composition, milk fermentation and other properties

Ukazatel ¹	Jednotka ²	n	\bar{x}	$s_{\bar{x}}$	$v_{\bar{x}}$ %	Min.	Max.
KSM	ml x 2,5 mmol/l	211	21,77	7,00	32,13	7,83	41,68
T	%, g/100 ml	214	4,21	0,41	9,78	2,10	5,18
B	%, g/100 g	216	3,28	0,18	5,6	2,65	3,83
L	%, g/100 g	188	4,75	0,17	3,48	3,92	5,15
TPS	%, g/100 g	188	8,73	0,28	3,23	7,27	9,25
S	%, g/100	186	12,83	0,54	4,17	10,56	13,94
PSB	tis./ml	218	339	250	73,8	10	1 723
γ	m S/cm	189	4,51	0,3	6,61	3,95	5,62
K-M	ml x 2,5 mmol/l	216	6,62	0,38	5,78	5,60	8,00
K-S	ml x 2,5 mmol/l	189	4,85	0,50	10,23	3,83	6,44
K-K	ml x 2,5 mmol/l	189	1,77	0,50	28,39	0,16	2,97
K-SB	ml x 2,5 mmol/l	189	3,62	0,50	13,70	1,81	5,44
K-KKF	ml x 2,5 mmol/l	189	2,58	0,75	28,99	0,16	4,18
K-PKKF	ml x 2,5 mmol/l	189	1,23	0,43	34,74	0,20	2,62
KSy	třída	190	1,99	0,74	37,01	1	3
ČK	sekundy	189	121	27	22,33	35	222
PSy	mm	189	4,93	0,66	13,50	3,35	6,85
M	mg/100 ml	218	24,49	9,34	38,14	6,53	50,26
AS	ml	189	3,54	0,79	22,31	1,7	7,5

KSM = kysací schopnost mléka; T = tuk; B = bílkovina; L = laktóza; TPS = tukoprostá sušina; S = sušina; PSB = počet somatických buněk; γ = vodivost; K-M = titrační kyselost mléka; K-S = titrační kyselost syrovátky; K-K = titrační kyselost kazeinu; K-SB = titrační kyselost syrovátkových bílkovin; K-KKF = titrační kyselost koloidního kalciumfosfátu; K-PKKF = titrační kyselost bodu precipitace koloidního kalciumfosfátu; KSy = kvalita syřeniny; ČK = čas koagulace; PSy = pevnost; M = močovina; AS = alkoholová stabilita

KSM = fermentation; T = fat; B = protein; L = lactose; TPS = nonfat solids; S = solids; PSB = somatic cell counts; γ = conductivity; K-M = titratable milk acidity; K-S = titratable whey acidity; K-K = titratable casein acidity; K-SB = titratable whey proteins acidity; K-KKF = titratable colloidal calcium phosphate acidity; K-PKKF = titratable colloidal calcium phosphate precipitation point acidity; KSy = curd quality; ČK = curdling ability (coagulation time); PSy = curd firmness; M = urea; AS = alcohol stability

¹parameter, ²units

II. Základní statistické ukazatele kysací schopnosti a makroprvků v bazénových vzorcích mléka – Basic statistical data of milk fermentation and macroelements in bulk milk sample

Ukazatel ¹	Jednotka ²	n	\bar{x}	$s_{\bar{x}}$	$v_{\bar{x}}$ %	Holec (1980)
Kysací schopnost ³	ml x 2,5 mmol/l	211	21,77	7,00	32,13	
Anorganický fosfor ⁴	mg/100 g	218	75,94	12,00	15,8	80
Na	mg/l	217	380	53,46	14,07	500
K	mg/l	217	1 449	118,22	8,16	1 450
Mg	mg/l	217	105	10,13	9,65	150
Ca	mg/l	217	1 367	123,57	9,04	1 200
P	mg/l	217	861	178,96	20,79	950

¹parameter, ²units, ³fermentation, ⁴inorganic phosphorus

n ušet al., 1993b). Tento vztah byl pozorován překvapivě i pro PSB, i když jako statisticky nevýznamný. Vodivost v této skupině dosáhla hodnoty 4,43, tedy nižší než 4,53 dosažené ve druhé skupině. Také v obsahu minerálních látek byla tedy zjištěna diference, významná pro obsah sodíku a fosforu. Ve skupinách se projevila změna titrační kyselosti koloidního kalciumfosfátu (vyšší kysací schopnost – nižší kyselost)

a u hodnot s nižší kysací schopností byla zjištěna nižší titrační kyselost odpovídající bodu precipitace koloidního kalciumfosfátu.

Dynamika sezónních změn je patrná z obr. 1. Obsah močoviny začal vzrůstat v únoru, nejvyšší hodnoty bylo dosaženo v červenci a poté hodnoty vykazovaly klesající tendenci. Odpovídá to odezvě přechodu krmení ze zimní krmné dávky na letní, kdy je zkrmováno mlá-

III. Průkaznost rozdílů mezi jednotlivými ukazateli ve dvou sledovaných třídách – pod a nad 25 (ml x 2,5 mmol/l) KSM – Significance of differences between two classes – below and above 25 (ml x 2.5 mmol/l) KSM

	Kysací schopnost ¹						t-hodnoty ²	Významnost diference ³
	< 25			> 25				
	n	\bar{x}	$s_{\bar{x}}$	n	\bar{x}	$s_{\bar{x}}$		
KSM	147	17,93	3,73	64	30,62	4,12		
T	145	4,2	0,41	62	4,24	0,4	0,70	
B	147	3,26	0,19	62	3,32	0,15	2,29	
L	135	4,74	0,17	47	4,78	0,16	1,31	
TPS	135	8,69	0,28	47	8,82	0,27	2,77	
S	133	12,8	0,54	47	12,91	0,51	1,19	
PSB	147	320	223	64	380	303	1,59	
γ	135	4,53	0,32	48	4,43	0,22	1,98	
K-M	146	6,59	0,41	63	6,70	0,32	1,78	
K-S	135	4,83	0,47	48	4,83	0,51	0,06	
K-K	135	1,75	0,51	48	1,89	0,44	1,74	
K-SB	135	3,65	0,47	48	3,49	0,55	1,94	
K-KKF	135	2,68	0,74	48	2,41	0,68	2,24	
K-PKKF	135	1,18	0,41	48	1,34	0,45	2,22	
KSy	135	2	0,73	49	2	0,71	2,42	
ČK	135	122	27,5	48	118	24,45	1,09	
PSy	135	4,81	0,64	48	5,24	0,61	4,05	
M	147	23,56	9,27	64	27,12	9,26	2,55	
AS	135	3,57	0,82	48	3,50	0,7	0,52	
Anorganický P ⁴	147	74,97	11,17	64	77,40	13,39	1,36	
Na	146	388	55,2	64	365	44,54	2,92	
K	146	1 445	126,73	64	1 461	102,62	0,90	
Mg	146	105	10,55	64	106	8,96	0,91	
Ca	146	1 375	130,23	64	1 349	111,65	1,37	
P	146	883	192,88	64	806	130,42	2,9	

* $P < 0,05$; *** $P < 0,001$

¹fermentation, ²t-values, ³significance of difference, ⁴inorganic phosphorus

dé zelené krmivo s nižším obsahem energie a vyšším obsahem bílkovin. Hodnoty KSM byly v průběhu roku (s výjimkou ledna a letních měsíců) na nízké úrovni nedosahující hranice 25 x 2,5 mmol/l. Nejvyšší hodnoty pro letní období udávají i Hanuš et al. (1993b). Živné médium musí obsahovat odpovídající obsah energie (obsah laktózy) a zdroj stavebního materiálu (bílkoviny), které jogurtová kultura potřebuje ke svému růstu. Foltys et al. (1995) uvádějí, že pokud je jogurtová kultura oslabena, může být citlivější ke zvýšenému obsahu močoviny. Gajdůšek (1994) uvádí, že kysací schopnost se zhoršuje za přítomnosti zvýšených koncentrací přirozených inhibičních látek zjišťovaných v mastitidním mléce a mlezívu, což potvrzují i Suchánek et al. (1978). Na obr. 1 můžeme zjistit, že počty somatických buněk byly po většinu roku vysoké, a je pravděpodobné, že se mohou podílet na celkové nízkých hodnotách KSM.

Průkazné koeficienty korelace mezi sledovanými ukazateli jsou uvedeny v tab. IV a V. Pozitivní závislost byla u kysací schopnosti zjištěna ve vztahu k lak-

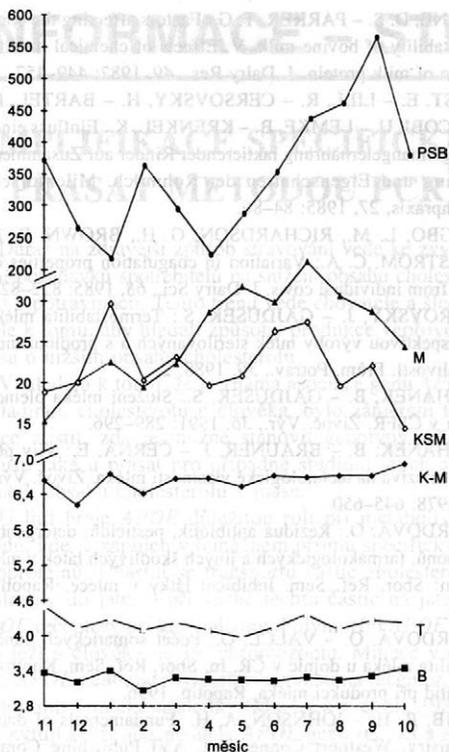
tóze, tukuprosté sušiny, pevnosti sýřeniny a k anorganickému fosforu ($r = 0,19$; $0,19$; $0,19$; $0,19$) a negativní k vodivosti a kvalitě sýřeniny, k obsahu sodíku a fosforu ($r = -0,26$; $-0,16$; $-0,17$; $-0,23$). Také Gajdůšek (1989) uvádí vztah kysací schopnosti k obsahu laktózy a anorganického fosforu. Titrační kyselost mléka je závislá na chemickém složení mléka, zejména bílkovin, což potvrzují i koeficienty korelace (K-M x T $r = 0,24$; K-M x B $r = 0,52$; K-M x L $r = 0,38$) a je v negativní závislosti k obsahu Na a pozitivní k obsahu K ($r = 0,27$), Mg ($r = 0,43$), Ca ($r = 0,18$) a P ($r = 0,28$). I v této práci byla potvrzena závislost mezi L a PSB ($r = -0,36$), v souladu s údaji autorů Hanuš et al. (1993b), kteří uvádějí možnost využívání této závislosti ke zpřesnění určování poruch sekrece mléčné žlázy. Mezi laktózou a vodivostí byl zjištěn negativní vztah ($r = -0,30$) a mezi počtem somatických buněk a vodivostí byla zjištěna očekávaná, avšak méně pozitivní závislost ($r = 0,17$). Obsah tukuprosté sušiny byl v pozitivním vztahu s pevností sýřeniny ($r = 0,39$), s celkovou kyselostí mléka ($r = 0,55$) a při frakcionaci

IV. Průkazné koeficienty korelace mezi složkami a vlastnostmi bazénového mléka – Significant coefficients of correlation of milk composition and properties

	KSM	T	B	L	TPS	S	PSB	γ	K-M	K-S	K-C	K-SB	KSy	PSy	ČK	M	AS
KSM				0,19**	0,19**			-0,26**						0,19**			
T			0,34**		0,31**	0,87**	0,19**		0,24**	0,29**		0,25**	-0,15*	0,17*			-0,15*
B				0,30**	0,82**	0,72**		0,25**	0,52**	0,23**	0,17*	0,21**	-0,31**	0,47**			
L					0,77**	0,47**	-0,36**	-0,30**	0,38**	0,25**		0,26**					
TPS						0,75**	-0,27**		0,55**	0,29**	0,14*	0,28**	-0,27**	0,39**			
S									0,47**	0,36**		0,33**	-0,24**	0,33**			
PSB								0,17*									
γ									0,14*								
K-M										0,37**	0,41**	0,34**	-0,29**	0,41**			
K-S											-0,70**	0,63**	-0,29**	0,37**	-0,38**		
K-C												-0,36**			0,27**		0,16*
K-SB													-0,26**	0,23**	-0,28**	0,23**	
KSy														-0,62**	0,26**		
PSy															-0,47**		
ČK																	
M																	
AS																	0,24**

V. Koeficienty korelace mezi makroprvky a složkami a vlastnostmi bazénového mléka – Coefficients of correlation between macroelements properties and milk composition

	KSM	B	L	PSB	γ	K-M	K-S	K-C	K-SB	K-KKF	KSy	PSy	ČK	M	AS
Anorganický P	0,19**	0,26**	0,33**	-0,20**	-0,07	0,06	0,07	-0,01	0,05	-0,22**	-0,19*	0,12	0,16*	-0,16*	0,83**
Na	-0,17*	0,06	-0,32**	0,18**	0,09	-0,19**	-0,13	0,02	-0,26**	-0,65**	-0,01	0,08	0,13	-0,38**	-0,32**
K	0,08	0,12	0,22**	-0,05	0,11	0,27**	-0,01	0,22**	0,16*	-0,06**	0,03	0,17*	-0,02	0,30**	0,12*
Mg	0,03	0,56**	0,06	0,02	0,37**	0,43**	0,15*	0,18**	0,13	-0,57**	-0,17*	0,39**	0,01	0,01	0,06
Ca	-0,11	0,22**	0,19**	-0,05	-0,25**	0,18**	0,01	0,11	0,01	-0,65**	0,02	0,28**	-0,04	0,09	0,03
P	-0,23**	0,31**	0,01	-0,01	0,21**	0,28**	0,24**	-0,04	0,07	-0,64**	-0,03	0,36**	-0,12	0,02	0,08



1. Závislost vybraných ukazatelů mléka během ročního sledování – Graph of some milk characteristics during one-year observation; x-axis – months

titrační kyselosti i s jednotlivými složkami ($r = 0,37; 0,41; 0,34$). S růstem titrační kyselosti mléka se zlepšovala kvalita sýřeniny a pevnost sýřeniny ($r = -0,29; 0,41$). Totéž platí i pro zvyšující se titrační kyselost syrovátky ($r = -0,29; 0,37$), čas koagulace se snižoval ($r = -0,38$). S vyšší titrační kyselostí syrovátkových bílkovin se zlepšovala kvalita sýřeniny ($r = -0,26$) a pevnost sýřeniny ($r = 0,23$) i čas koagulace ($r = -0,28$). Pevnost sýřeniny ovlivňuje texturu a množství sýrů. Jak uvádějí Okigbo et al. (1985), byly zjištěny významné korelace mezi časem koagulace a pevností sýřeniny ($r = -0,86$). Také v našem sledování byl prokázán negativní vztah s $r = -0,47$. K získání zvýšené a uniformní pevnosti sýřeniny jsou prováděny pokusy s přidávkou chloridu vápenatého do mléka určeného k výrobě sýrů. Jak jsme zjistili, korelační koeficient mezi obsahem vápníku a pevností sýřeniny je statisticky významný ve výši 0,28. Pevnost sýřeniny stoupá se vzrůstem obsahu bílkovin ($r = 0,47$), což potvrdili i Hanuš et al. (1995), kteří udávají korelační koeficient $r = 0,30$. Jasně a pochopitelně jsou vzájemné závislosti mezi pevností sýřeniny a kvalitou sýřeniny ($r = -0,62$) a mezi kvalitou a časem koagulace ($r = 0,26$). Alkoholová stabilita byla změnou složení a vlastností ovlivněna nejméně, negativní vztah byl zjištěn k tuku a obsahu sodíku ($r = -0,15; -0,32$), pozitivní závislost

byla zjištěna k obsahu močoviny, anorganického fosforu a draslíku ($r = 0,24; 0,83; 0,12$). Stejnou závislost mezi močovinou a alkoholovou stabilitou zjistili i Genčurová et al. (1993).

Kysací schopnost mléka IN-test pozitivních vzorků, které byly ze sledování vyřazeny, byla na závěr porovnána s KSM vzorků IN-test negativních. Rozdíl mezi nimi byl statisticky nevýznamný.

Testy provedené k určení obsahu zbytkových množství čistících a dezinfekčních preparátů byly negativní. Za předpokladu dodržení předepsaného postupu by neměly ovlivňovat technologický proces. Ani kvarterní amonné soli (např. z Ajatinu), které více uplívají na kůži struků a na dojicím zařízení a obtížněji se odstraňují, by při správné aplikaci dezinfekce neměly způsobovat problémy.

Kromě výše uvedených činitelů je nutné poukázat ještě na další možnost, kde hledat příčinu nízké kysací schopnosti, na kterou poukazují Hanuš et al. (1992) a zejména Gajdůšek (1989, 1992), který uvádí malou objektivitu tohoto testu a upozorňuje na důležitost podmínek, za kterých je KSM prováděna, tj. přesné dodržování doby, teploty inkubace, chlazení po inkubaci, dokonalá titrace vzorků, u kterých došlo k aglutinaci, a stáří jogurtové kultury. Jako značný problém při vyhodnocování výsledků se ukazuje i nestandardizovaná jogurtová kultura. Jako každá chemická metoda i tento test je zatížen chybou – rozdíl mezi pracovišti povolený normou (ON 57 0534) zde činí $5 \times 2,5$ mmol/l. Potom je sporné porovnávání hodnot naměřených na různých pracovištích. Rozdíl mezi dvěma stanoveními v laboratoři může být $3 \times 2,5$ mmol/l, avšak v praxi je stanovení v laboratořích prováděno pouze jednou. Vypovídací schopnost výsledků je pak tedy značně diskutabilní. Hanuš et al. (1992) navrhuje, aby se za základ pro proplácení mléka vzala průměrná hodnota oblasti v určitém časovém období a takto se obešla nestandardnost metody.

LITERATURA

- BOROŠ, V.: Technologické vlastnosti mlieka ako významný ukazovateľ jeho kvality. Poznatky z výskumu, VÚM Žilina, 61, 1989.
- DAVIES, D. T. – WHITE, J. C. D.: The relation between the chemical composition of milk and the stability of the caseinate complex. II. Coagulation by ethanol. J. Dairy Res., 25, 1958: 256–266.
- FOLTYŠ, V. – PAŽMOVÁ, J. – CHOBOTOVÁ, E. – ZÁTOPKOVÁ, V.: Sezónne kolísanie zloženia bazénového mlieka vo vzťahu k jeho spracovateľnosti. J. Farm. Anim. Sci., XXVIII, 1995: 67–70.
- GAJDŮŠEK, S.: Hodnocení a posuzování kysací schopnosti mléka. In: Sbor. Ref. Problematika prvovýroby mléka XII, Pardubice, 1987.
- GAJDŮŠEK, S.: Kysací schopnost, syřitelnost a alkoholová stabilita kravského mléka a jejich vztah ke složení mléka. Živoč. Vyr., 34, 1989: 413–422.

- GAJDŮŠEK, S.: Vývoj jakosti a hodnocení syrového kravského mléka. *Prům. Potravn.*, 43, 1992: 450–452.
- GAJDŮŠEK, S.: Problémy v technologické zpracovatelnosti mléka, zejména v jeho kysací schopnosti. In: Sbor. Ref. Sem. Inhibiční látky v mléce, Rapotín, 1994.
- GENČUROVÁ, V. – HANUŠ, O. – BEBER, K. – KOPECKÝ, J. – HAVLÍČKOVÁ, K.: Vztah alkoholové stability kravského mléka k některým mléčným složkám a faktorům prvovýroby. *Živoč. Výr.*, 38, 1993: 837–848.
- HANUŠ, O. – FOLTYS, V.: Některé vlastnosti a minerální složky mléka plemen skotu v Československu. *Živoč. Výr.*, 36, 1991: 497–505.
- HANUŠ, O. – SUCHÁNEK, B. – GENČUROVÁ, V.: Uplatnění kysací aktivity jako ukazatele kvality mléka při zpeněžení. *Náš Chov (Praha)*, 7, 1992: 316–317.
- HANUŠ, O. – BEBER, K. – FICNAR, J. – GENČUROVÁ, V. – GABRIEL, B. – BERANOVÁ, A.: Vztah mezi kysací schopností bazénového kravského mléka, jeho složením a obsahem některých metabolitů. *Živoč. Výr.*, 38, 1993a: 635–644.
- HANUŠ, O. – GENČUROVÁ, V. – PONÍŽIL, A. – HLÁSNÝ, K. – GABRIEL, B. – MÍČOVÁ, Z.: Vliv ročního období, přídavku močoviny, acetonu a dusičnanů a přirozeného obsahu mikroprvků na kysací schopnost kravského mléka. *Živoč. Výr.*, 38, 1993b: 753–762.
- HANUŠ, O. – GAJDŮŠEK, S. – BEBER, K. – FICNAR, J. – JEDELSKÁ, R.: Složení a technologické vlastnosti mléka od dojníc ve střední části laktace a jejich vzájemné vztahy. *Živoč. Výr.*, 40, 1995: 551–561.
- HLÁSNÝ, J. – HLÁSNÝ, K.: Obsah základních makroprvků v těle dojníc – výzkum hořčiku. *Výzk. Chovu Skotu*, 1991: 15–17.
- HOLEC, J.: Hygiene mléka a mléčných výrobků (Hygiene of Milk and Milk Products). [Skriptum.] Brno, 1980.
- HORNE, D. S. – PARKER, T. G.: Factors affecting the ethanol stability of bovine milk. V. Effects of chemical modification of milk protein. *J. Dairy Res.*, 49, 1982: 449–457.
- KIRST, E. – LILL, R. – CERSOVSKY, H. – BARTEL, B. – JACOBI, U. – LEMKE, B. – KRENKEL, K.: Einfluss einer Energiemangelernährung laktierender Rinder auf Zusammensetzung und Eigenschaften der Rohmilch. *Milchforsch. Milchpraxis*, 27, 1985: 84–86.
- OKIGBO, L. M., RICHARDSON, G. H., BROWN, R. J., ERNSTROM, C. A.: Variation in coagulation properties of milk from individual cows. *J. Dairy Sci.*, 68, 1985: 822–828.
- PATROVSKÝ, J. – GAJDŮŠEK, S.: Termostabilita mléka s perspektivou výroby mléka sterilovaných a s prodlouženou trvanlivostí. *Prům. Potravn.*, 39, 1988: 2.
- SUCHÁNEK, B. – GAJDŮŠEK, S.: Složení mléka plemen skotu v ČSFR. *Živoč. Výr.*, 36, 1991: 289–296.
- SUCHÁNEK, B. – BRAUNER, J. – ČERNÁ, E.: Vliv příměsí mleziva na technologické vlastnosti mléka. *Živoč. Výr.*, 23, 1978: 645–650.
- ŠKARDOVÁ, O.: Rezidua antibiotik, pesticidů, detergentů, hormonů, farmakologických a jiných škodlivých látek v mléce. In: Sbor. Ref. Sem. Inhibiční látky v mléce, Rapotín, 1994.
- ŠKARDOVÁ, O. – VALCL, O.: Počet somatických buněk a kvalita mléka u dojníc v ČR. In: Sbor. Ref. Sem. Kontrola mastitid při produkci mléka, Rapotín, 1996.
- WEBB, B. H. – JOHNSON, A. H.: Fundamentals of dairy chemistry. Westport Connecticut, AVI Publishing Comp. 1965: 343–345.
- ČSN 57 0529. Syrové kravské mléko. Praha.
- ČSN 57 0534. Stanovení kysací schopnosti mléka. Praha.

Došlo 12. 12. 1996

Kontaktní adresa:

Václava Genčurová, Výzkumný ústav pro chov skotu, s. r. o., Rapotín, 788 13 Vikýřovice, Česká republika, tel.: 0649/21 41 01, fax: 0649/21 57 02

AMPLIFIKACE SPECIFICKÉHO FRAGMENTU GENU *APOE* U PRASAT METODOU PCR*

Důraz na zdravější způsob stravování vede ke zvyšování požadavků spotřebitelů na snížení obsahu cholesterolu v potravinách. Tento trend vede chovatele a šlechtitele k tomu, aby hledali způsoby produkce vepřového masa o nižším obsahu cholesterolu.

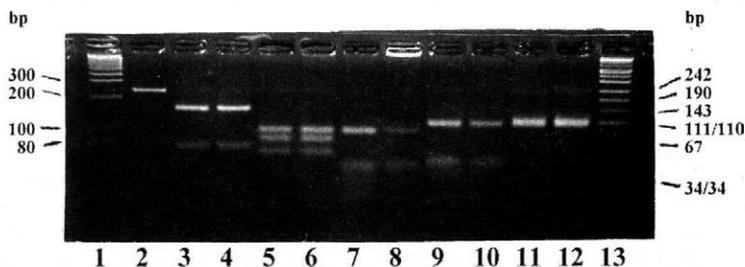
Vzhledem k tomu, že je známa asociace genu *APOE* s hladinou cholesterolu u člověka, bylo záměrem této práce zjistit, zda je možné stanovit genotypy *APOE* lokusu také u prasat pro případné studium jejich asociace k obsahu cholesterolu v maso.

U lidí hraje *APOE* důležitou roli při metabolismu lipidů, kde je zapojen v buněčném příjmu specifických lipoproteinů. Účastní se transportu částic cholesterolu z plazmy do jater a při vazbě těchto částic na jaterní *APOE* receptory při katabolismu. Polymorfni *APOE* lokus leží u člověka na 19. chromozomu. Mutace v oblasti *APOE* genu, odpovídající za vazbu na receptor, by mohly mít klinické důsledky (McLean et al., 1984). Vyskytují se tři obecné alely *APOE* genu ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$ a $\epsilon 4$), které kódují E2, E3, E4 izoformy proteinu odlišující se navzájem přítomností cysteinu nebo argininu v pozicích 112 a 158: E2 (Cys112, 158); E3 (Cys112, Arg158) a E4 (Arg112, 158). Variabilita v alelických variantách *APOE* u člověka je spojena s malými, ale signifikantními rozdíly hladiny plazmatického cholesterolu a byla odhalena silná asociace mezi $\epsilon 4$ genotypem a Alzheimerovou chorobou (Saunders et al., 1994) a dále

s vyšší pravděpodobností progresu koronární nemoci (Van Bockxmeer et al., 1992). Z těchto důvodů byly zavedeny metody na detekci alel pomocí RFLP (Hixon, Vernier, 1990), nověji PCR-SSCP (Wilton, Lim, 1995).

Prasata jsou často užívána ke studiu lipoproteinového metabolismu, cévní biologie a aterosklerózy, která bývá spojována s přítomností *LPB*⁵ alely apolipoproteinu B. U prasat byl zaveden systém na determinaci genotypů apolipoproteinu B (Kaiser et al., 1993), založený na metodě PCR-RFLP. Analogicky bylo záměrem sledování i variability uvnitř *APOE*. U prasete leží lokus *APOE* na 6. chromozomu uvnitř halotanové vazebné skupiny L6 (Yerle et al., 1990). Geny této skupiny ovlivňují množství intramuskulárního tuku i ukládání podkožního tuku. Lze tedy předpokládat, že i *APOE* u prasete zasahuje do metabolismu lipidů. Znalost variability tohoto genu by také mohla být využitelná při vazebném mapování této významné vazebné skupiny.

Nejprve byla testována možnost využití homologie lidského a prasečího genomu. Na základě publikovaných primerů pro studium variability *APOE* u člověka byly zvoleny dva páry primerů pro amplifikaci úseku DNA z oblasti odpovídající za vazbu na receptor (Wilton, Lim, 1995). Tato oblast má vysoký stupeň homologie i mezi různými druhy savců (Matsushima et



1. PCR amplifikace fragmentu genu *APOE* a štěpení restriktivními enzymy; elektroforéza v 6% agarózovém gelu

- 1 – DNA hmotnostní marker 1000-100 bp (po 100 bp)
- 2 – PCR produkt 238 bp
- 3, 4 – PCR produkt štěpený *MvaI* (150, 66, 22 bp)
- 5, 6 – PCR produkt štěpený *BsuRI* (93, 76, 56, 13 bp)
- 7, 8 – PCR produkt štěpený *Hin6I* (90, 39, 33, 25, 19 bp aj.)
- 9, 10 – PCR produkt štěpený *AluI* (108, 45, 33, 8 bp)
- 11, 12 – PCR produkt štěpený *Alw21* (115, 105, 18 bp)
- 13 – DNA hmotnostní marker pUC19/*MspI*

* Práce byla zpracována s podporou grantu GA ČR č. 1282.

al., 1989). Bylo ověřeno, že systém primerů pro detekci alel $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ a $\epsilon 4$ *APOE* u člověka nelze použít u prasete.

Z tohoto důvodu jsme se zaměřili na tvorbu vlastních primerů specifických pro prasečí DNA. Sekvenci lidské *APOE* mRNA publikovali McLean et al. (1984) a kompletní kódující sekvenci *APOE* u člověka Das et al. (1985). U prasete je známa pouze sekvence mRNA (Brzozowska, 1993). Na základě podobnosti s lidskou mRNA i lidskou úplnou kódující sekvencí byla vytypována oblast prasečí mRNA odpovídající lidskému exonu 3 a uvnitř byly navrženy primery pro amplifikaci fragmentu 238 bp. Sekvence primerů jsou: 5'-AGGCGCCCCCAGCTGGGCCCCGTGAC-3'; 5'-CGTTCTGCAGTCTCGGTGTCGC-3'.

DNA byla izolována z krve metodou podle autorů Nebola a Dvořák (1994). Optimalizovaná PCR probíhala v 25 μ l reakční směsi (standardní PCR pufr, 0,4 μ M každý primer, 1,5 mM Mg^{2+} , 200 μ M každý dNTP, asi 100 ng templátové DNA a 0,6 U Taq DNA polymerázy) a podmínkách predenaturace 95 °C/2 min a cyklování 30krát 95 °C/45 s, 62 °C/60 s, 72 °C/60 s. Velikost produktu po elektroforéze na 6% agarózovém gelu odpovídala 238 bp a jeho identita byla ověřována pomocí pěti restrikčních enzymů (obr. 1). Získaná spektra fragmentů souhlasila s teoretickými podle EMBL sekvence.

Existence polymorfismu byla testována u celkového počtu 72 prasat plemen landrase, bílé ušlechtilé a duroc za použití restrikčních enzymů *Mva*I, *Bsu*RI, *Hin*6I, *Alu*I a *Alw*21I (MBI Fermentas). Polymorfismus v daných restrikčních místech však dosud nebyl zjištěn.

Vypracování metody amplifikace fragmentu *APOE* genu pomocí PCR umožní v následující etapě studium polymorfismů v dané části genu *APOE* pomocí dalších restrikčních enzymů a metodou denaturační gradientové gelové elektroforézy (DGGE).

LITERATURA

- BRZOZOWSKA, A. – GRIMHOLT, U. – KULSETH, M. A. – WOLD, I. – ROGNE, S.: *DNA Seq.*, 4, 1993: 207–210.
- DAS, H. K. – McPHERSON, J. – BRUNS, G. A. P. – KARATHANANIS, S. K. – BRESLOW, J. L.: *J. Biol. Chem.*, 260, 1985: 6240–6247.
- HIXON, J. E. – VERNIER, D. T.: *J. Lipid Res.*, 31, 1990: 545–548.
- KAISER, M. E. – NEVIN, D. N. – STURLEY, S. L. – PURTELL, C. – ATTIE, A. D.: *Anim. Genetics*, 24, 1993: 117–120.
- MATSUSHIMA, T. – GETZ, S. G. – MEREDITH, S. C.: *Nucl. Acids Res.*, 18, 1989: 202.
- McLEAN, J. W. – ELSHOURBAGY, N. A. – CHANG, D. J. – MAHLEY, R. W. – TAYLOR, J. M.: *J. Biol. Chem.*, 259, 1984: 6498–6504.
- NEBOLA, M. – DVOŘÁK, J.: *Živoč. Výr.*, 39, 1994: 849–850.
- SAUNDERS, A. M. et al.: *Neurology*, 43, 1994: 1467–1472.
- VAN BOCKXMEER, F. M. – MAMOTTE, C. D. S.: *Lancet*, 340, 1992: 879–880.
- WILTON, S. – LIM, L.: *Trends in Genetics*, 11, 1995: 341.
- YERLE, M. – GELLIN, J. – DALENS, M. – GELLIN, J.: *Cytogenet. Cell Genet.*, 54, 1990: 86–91.

Mgr. Aleš Knoll, RNDr. Mojmir Nebola, CSc., prof. Ing. Josef Dvořák, CSc.

Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Ústav genetiky AF, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, tel.: 05/45 13 31 84, fax: 05/45 13 31 76

POKYNY PRO AUTORY

Časopis uveřejňuje původní vědecké práce, krátká sdělení a výběrově i přehledné referáty, tzn. práce, jejichž podkladem je studium literatury a které shrnují nejnovější poznatky v dané oblasti. Práce jsou uveřejňovány v češtině, slovenštině nebo angličtině. Rukopisy musí být doplněny krátkým a rozšířeným souhrnem (včetně klíčových slov).

Autor je plně odpovědný za původnost práce a za její věcnou i formální správnost. K práci musí být přiloženo prohlášení autora o tom, že práce nebyla publikována jinde.

O uveřejnění práce rozhoduje redakční rada časopisu, a to se zřetelem k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu a kvalitě práce.

Rozsah vědeckých prací nemá přesáhnout 15 stran psaných na stroji včetně tabulek, obrázků a grafů. V práci je nutné používat jednotky odpovídající soustavě měrových jednotek SI (ČSN 01 1300).

Vlastní úprava rukopisu má odpovídat státní normě ČSN 88 0220 (formát A4, 30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, mezi řádky dvojitě mezery), k rukopisu je vhodné přiložit disketu s prací pořízenou na PC v některém textovém editoru, nejlépe v T602, a s grafickou dokumentací. Tabulky, grafy a fotografie se dodávají zvlášť, nepodlepují se. Na všechny přílohy musí být odkazy v textu.

Pokud autor používá v práci zkratk jakéhokoliv druhu, je nutné, aby byly alespoň jednou vysvětleny (vypsány), aby se předešlo omylům. V názvu práce a v souhrnu je vhodné zkratku nepoužívat.

Název práce (titul) nemá přesáhnout 85 úhozů. Jsou vyloučeny podtitulky článků.

Krátký souhrn (Abstrakt) je informačním výběrem obsahu a závěru článku, nikoliv však jeho pouhým popisem. Musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo ve vědecké práci, a má obsahovat základní číselné údaje včetně statistických hodnot. Musí obsahovat klíčová slova. Nemá překročit rozsah 170 slov. Je třeba, aby byl napsán celými větami, nikoliv heslovitě. Je uveřejňován a měl by být dodán ve stejném jazyce jako vědecká práce.

Rozšířený souhrn (Abstract) je uveřejňován v angličtině, měly by v něm být v rozsahu cca 1–2 strojopisných stran komentovány výsledky práce a uvedeny odkazy na tabulky a obrázky, popř. na nejdůležitější literární citace. Je vhodné jej (včetně názvu práce a klíčových slov) dodat v angličtině, popř. v češtině či slovenštině jako podklad pro překlad do angličtiny.

Úvod má obsahovat hlavní důvody, proč byla práce realizována a velmi stručnou formou má být popsán stav studované otázky.

Literární přehled má být krátký, je třeba uvádět pouze citace mající úzký vztah k problému.

Metoda se popisuje pouze tehdy, je-li původní, jinak postačuje citovat autora metody a uvádět jen případné odchylky. Ve stejné kapitole se popisuje také pokusný materiál.

Výsledky – při jejich popisu se k vyjádření kvantitativních hodnot dává přednost grafům před tabulkami. V tabulkách je třeba shrnout statistické hodnocení naměřených hodnot. Tato část by neměla obsahovat teoretické závěry ani dedukce, ale pouze faktické nálezy.

Diskuse obsahuje zhodnocení práce, diskutuje se o možných nedostacích a práce se konfrontuje s výsledky dříve publikovanými (požaduje se citovat jen ty autory, jejichž práce mají k publikované práci bližší vztah). Je přípustné spojení v jednu kapitolu spolu s výsledky.

Literatura musí odpovídat státní normě ČSN 01 0197. Citace se řadí abecedně podle jména prvních autorů. Odkazy na literaturu v textu uvádějí jméno autora a rok vydání. Do seznamu se zařadí jen práce citované v textu. Na práce v seznamu literatury musí být odkaz v textu.

Na zvláštním listě uvádí autor plné jméno (i spoluautorů), akademické, vědecké a pedagogické tituly a podrobnou adresu pracoviště s PSC, číslo telefonu a faxu, popř. e-mail.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Original scientific papers, short communications, and selective reviews, that means papers based on the study of technical literature and reviewing recent knowledge in the given field, are published in this journal. Published papers are in Czech, Slovak or English. Each manuscript must contain a short and a longer summary (including the key words).

The author is fully responsible for the originality of his paper, for its subject and formal correctness. The author shall make a written declaration that his paper has not been published in any other information source.

The board of editors of this journal will decide on paper publication, with respect to expert opinions, scientific importance, contribution and quality of the paper.

The paper extent shall not exceed 15 typescript pages, including tables, figures and graphs.

Manuscript layout shall correspond to the State Standard ČSN 88 0220 (quarto, 30 lines per page, 60 strokes per line, double-spaced typescript). A PC diskette should be provided with the paper, written in an editor program, preferably T602, and with graphical documentation. Tables, figures and photos shall be enclosed separately. The text must contain references to all these annexes.

The **title** of the paper shall not exceed 85 strokes. Subtitles of the papers are not allowed either.

Abstract is an information selection of the contents and conclusions of the paper, it is not a mere description of the paper. It must present all substantial information contained in the paper. It shall not exceed 170 words. It shall be written in full sentences, not in form of keynotes, and comprise base numerical data including statistical data. It must contain key words. It should be submitted in English and if possible also in Czech or Slovak.

Introduction has to present the main reasons why the study was conducted, and the circumstances of the studied problems should be described in a very brief form.

Review of literature should be a short section, containing only literary citations with close relation to the treated problem.

Only original method shall be described, in other cases it is sufficient enough to cite the author of the used method and to mention modifications of this method. This section shall also contain a description of experimental material.

In the section **Results** figures and graphs should be used rather than tables for presentation of quantitative values. A statistical analysis of recorded values should be summarized in tables. This section should not contain either theoretical conclusions or deductions, but only factual data should be presented here.

Discussion contains an evaluation of the study, potential shortcomings are discussed, and the results of the study are confronted with previously published results (only those authors whose studies are in closer relation with the published paper should be cited). The sections Results and Discussion may be presented as one section only.

The citations are arranged alphabetically according to the surname of the first author. References in the text to these citations comprise the author's name and year of publication. Only the papers cited in the text of the study shall be included in the list of references. All citations shall be referred to in the text of the paper.

If any abbreviation is used in the paper, it is necessary to mention its full form at least once to avoid misunderstanding. The abbreviations should not be used in the title of the paper nor in the summary.

The author shall give his full name (and the names of other collaborators), academic, scientific and pedagogic titles, full address of his workplace and postal code, telefon and fax number or e-mail.

OBSAH – CONTENTS

Genetika a šlechtění – Genetics and Breeding

Příbyl J., Aumann J., Příbylová J., Averdunk G.: Ways of combination of partial breeding values to the sires complex index – Způsoby kombinace dílčích plemenných hodnot do souhrnného indexu plemenků 337

Novák L., Kotrbáček V., Holešovská Z.: Analýza vývoje živé hmotnosti brojlerů pomocí samoregulačního modelu růstu – Analysis of broiler live weight curve by means of a self-regulating growth model 343

Fyziologie a reprodukce – Physiology and Reproduction

Říha J., Žižlavský J., Golda J., Mikšík J.: Vliv délky poporodního období na superovulaci a kvalitu získaných embryí – The effect of postpartal period on superovulation and quality of recovered embryos 349

Bomba A., Gancarčíková S., Nemcová R., Herich R., Čížek M., Kapitančík B.: Aplikácia *Lactobacillus casei* telatám s rozvinutou črevnou mikroflórou – Administration of *Lactobacillus casei* to calves with well-established gut microflora 355

Suchý P., Straková E., Illek J.: Relationships between haematological and reproductive indices in breeder cocks – Vztahy mezi hematologickými a reprodukčními ukazateli u plemenných kohoutů 361

Výživa a krmení – Nutrition and Feeding

Zobač P., Kumprecht I., Šimeček K.: The effect of microbial phytase in feed mix for early weaning on phosphorus and calcium digestibility and utilization in piglets – Vliv mikrobiální fytyazy v krmné směsi pro časný odstav na stravitelnost a využití fosforu a vápníku u selat 367

Živočišné produkty – Animal Products

Genčurová V., Hanuš O., Hrdinová E., Jedelská R., Kopecký J.: Vztahy kysací schopnosti a dalších technologických vlastností k vybraným parametrům mléka – Relationships of fermentation and other technological characteristics to selected parameters of milk 375

Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA – FROM THE SPHERE OF SCIENCE

Kolektiv: K sedmdesátinám prof. Ing. Zdeňka Župky, DrSc. 342

INFORMACE – STUDIE – SDĚLENÍ – INFORMATION – STUDIES – REPORTS

Knoll A., Nebola M., Dvořák J.: Amplifikace specifického fragmentu genu *APOE* u prasat metodou PCR 383